第 XXI 卷, 第 4 號

Vol. XXI, No. 4

日本 植物病理學會報

©

ANNALS OF THE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

昭和 31 年 12 月
December 1956

日本植物病理学会
THE PHYTOPATHOLGICAL SOCIETY OF JAPAN
東京
TŌKYŌ

日本植物病理學會報 第XXI卷, 第4號

目　次

原　著

雑　録

Two new species of *Endothia*

Takao KOBAYASHI and Kazuo ITŌ*

During recent years, the writers have collected many specimens of *Endothia* inhabiting various kinds of broad-leaved trees and classified them into seven species. Among them five were identified as the following hitherto known species: *Endothia parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. Anderson, *E. singularis* (P. et H. Sydow) Shear et Stevens, *E. fluens* (Schw.) Shear et Stevens, *E. havanensis* Bruner and *E. tropicalis* Shear et Stevens, but the other two are considered as new to the science. In this paper, the writers describe these two new species of *Endothia* with brief supplementary notes.

1. *Endothia japonica* sp. nov.

Stromatibus corticola, sparsis v. dense gregariis, "Deep Chrome" v. "Cadmium Yellow"; peritheciis globulosis, 280-600 μ in diam.; collis nigris, erumpentibus, 480-1390 μ longis; ascis subclavatis v. oblongo-ellipticis, 43-66 × 7-11 μ, octosporis; ascosporidiis irregulariter biseriatis, ellipticis v. obovoidis, utrinque rotundatis, hyalinis, uniseptatis, ad septum constrictis, (9)-10.5-12.5-(17) × (3.5)-4-4.5-(5.5) μ.

Hab.: On the bark of stem of dead or living *Quercus grosseserrata* Bl. (Mizu-nara) and *Q. glandulifera* Bl. (Ko-nara).

Distribution: Japan (Honshû).

Materials: On *Quercus grosseserrata* (Mizu-nara)——Meguro, Tokyo, May 19, 1954, coll. by T. Kobayashi (TYPUS)[1]; Mt. Ōtake, Tokyo, May 23, 1954, coll. by T. K.; Mt. Togakushi, Nagano Pref., July 18, 1954, coll. by T. K.; Higashine, Yamagata Pref., Aug. 6, 1954, coll. by T. K.; Mt. Zaô, Yamagata Pref., Aug. 7, 1954, coll. by T. K.; Narusawa, Yamanashi Pref., Sept. 23, 1954, coll. by T. K.; Agematsu, Nagano Pref., Oct. 11, 1955, coll. by T. K.,; Wada, Nagano Pref., Oct. 13, 1955, coll. by T. K. On *Q. glandulifera* (Ko-nara)——Kanô, Nagano Pref., Oct. 24, 1954, coll. by T. K.; Hinoharu, Yamanashi Pref., April 19, 1955, coll. by T. K.

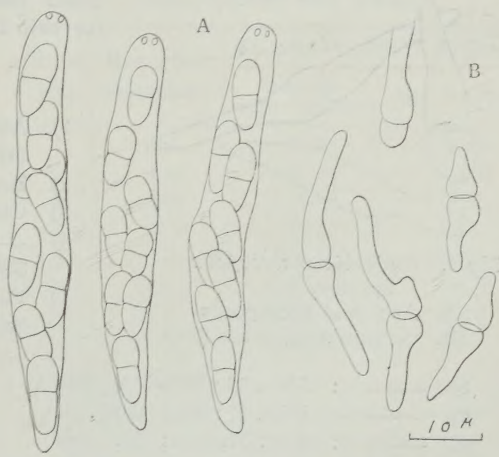


Fig 1. *Endothia japonica* sp. nov.
A. Asci and ascospores
B. Germinating ascospores

Notes: Perithecia are irregularly embedded in the lower portion of the stroma and usually 50 or more in number. The present species is very near in type to *Endothia tropicalis* among the already known species. But it has larger asci and ascospores than the latter, distinguishing both sufficiently to classify them into different species. In *E. tropicalis*, asci are 40–50 × 7 μ and ascospores are 7.5–10.5 × 3.5–5 μ, mostly 8–10 × 4–4.5 μ, whereas in our fungus the sizes are respectively as follows: 43–66 × 7-11 μ and 9-17 × 3.5-5.5 μ, mostly 10.5-12.5 × 4-4.5 μ.

In culture on potato sucrose agar, the fungus grows flatly and has yellowish orange ("Orange" to "Cadmium Yellow") colored mycelium on which a few pycnidial bodies are produced.

---

* Laboratory of Forest Pathology, of the Government Forest Experiment Station, Meguro, Tokyo, Japan.

1) The type specimen is deposited in the Herbarium of the Government Forest Experiment Station, Meguro, Tokyo, Japan.

2. *Endothia macrospora* sp. nov.

Stromatibus corticola, sparsis v. dense gregariis, "Orange"; peritheciis globulosis 340–580 μ in diam.; collis nigris erumpentibus 790–1090 μ longis; ascis oblongo-subclavatis v. oblongo-ellipticis, 62–73 × 10–11 μ, octosporis; ascosporidiis irregulariter biseriatis, ellipticis, hyalinis, uniseptatis, ad septum constrictis, 14–18 × 5–5.5μ; pycnidiis stromaticis, irregulariter cavitatis; conidiis oblongis, hyalinis, 3.5–4.5 × 0.7–1.1 μ.

Hab.: On the bark of dead *Shiia Sieboldii* Makino (Shii) (Shinagawa, Tokyo, June 22, 1954, by T. Kobayashi—(TYPUS).

Distribution; Japan (Tokyo).

Notes: Perithecia are irregularly embedded in the lower portion of the stroma, usually 50 or more, and has open conical ostioles on the surface of the stroma with black slender necks. In this species asci and ascospores are far larger than those of all the other species of the genus.

One-month-old cultures on potato sucrose agar are flat and have pinkish yellow ("Bittersweet" or "Pinc" to "Salmon Orange") mycelium on which the viscosious conidial masses are pushed out from a few large pycnidia.

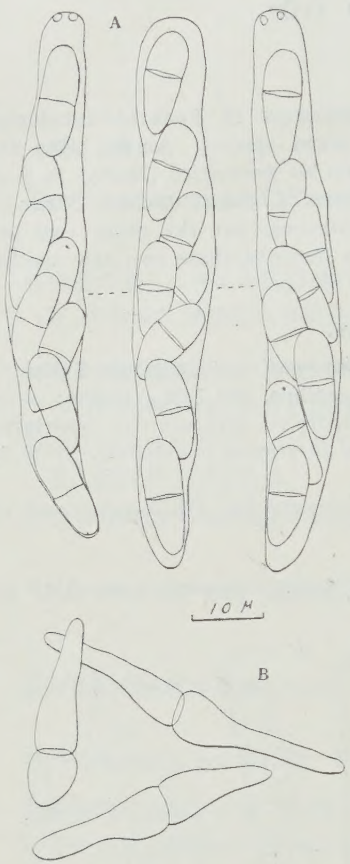


Fig 2. *Endothia macrospora* sp. nov.
A. Asci and ascospores
B. Germinating ascospores

The writers wish to express their sincere thanks to Mr. Rokuya Imazeki, Chief of Protection Division of the Station, for his advice and critical editing of the Latin diagnoses. Their thanks are also extended to Mr. Michio Nakagawa for help in preparation of the illustrations.

(Received April 23, 1956)

Literature

1) Anderson, P. J. & H. W.: Phytopath., 2: 261~262. (1912).
2) Bruner, S. C: Mycologia, 8: 239~242. (1916).
3) Clinton, G. P: Phytopath., 2: 265~269. (1912).
4) ———: Ann. Rept. Connec. Agr. Exp. Sta., 1912: 359~453. (1913).
5) Farlow, W. G: Science n. s., 35: 717~722. (1912).
6) Saccardo, P. A: Syll. Fung., 1: 600. (1882).
7) ———: *Ibid.*, 9: 700. (1891).
8) ———: *Ibid.*, 14: 550~551. (1899).
9) ———: *Ibid.*, 17: 675. (1905).
10) ———: Ann. Myc., 4: 273. (1906).
11) ———: Syll. Fung., 24: 760~762. (1928).
12) Shear, C. L., Stevens, N. E. & Tiller, R. J: U. S. Dept. Agr. Bull., 380: 1~82. (1917).
13) Sydow, H. & P.: Ann. Myc., 10: 82. (1912).
14) Viziolii, J: Mycologia, 15: 115~116. (1923).

疫病菌の侵入に対する馬鈴薯の抵抗反応に関する生理学的研究

IV. Ethanol 処理による抵抗性低下の生理学的研究（その2）

冨山宏平*・酒井隆太郎**・高瀬 昇*・高桑 亮*

K. Tomiyama, R. Sakai, N. Takase and M. Takakuwa: Physiological studies on the defence reaction of potato plant to the infection by *Phytophthora infestans.*

IV. The influence of pre-infectional ethanol narcosis upon the physiological reaction of potato tuber to the infection by *P. infestans* (part. 2).

前諸報[8,9]で馬鈴薯塊茎が疫病菌に対して抵抗性を示す場合に，その疫病菌の感染を受けた組織は呼吸の増加，ならびにそれに伴う合成に向う代謝の促進が見られることを明らかにした。ethanol で塊茎を処理して抵抗性を低下せしめると，この組織の呼吸の増加が抑制され，呼吸に伴う代謝の促進も同時に抑制される[9]。本報告ではこの ethanol 処理の呼吸に対する影響に就いて行つた 2,3 の実験結果について述べる。

1. 馬鈴薯塊茎切断面における呼吸の増加に対する ethanol 処理の影響

（a） 実験法および材料 本研究を通じて馬鈴薯塊茎の ethanol 処理には次のような2通りの方法を用いた。

Slice 処理法：馬鈴薯塊茎から直径 2.1 cm のコルクボーラーで組織を抜きとり，ミクロトームで 0.45 mm の厚さの slice を作つた。この slice を2区に分けて ethanol および水に10分間浸漬し，のち流水中で約 5～30 分間水洗した。

塊茎半切処理法：塊茎を2つに切り，アルコール10％液に 10 分間浸漬し，のち軽く水洗し，シャーレ内に貯蔵し所定時間後に上法で表層組織の slice を作り測定に供した。

処理後初期時間の呼吸測定のためには slice を処理後 30 分間水洗して，後 Warburg 法で O_2 吸収を測定した。また ethanol 処理4.5時間後の呼吸測定区では処理後4時間流水洗を行つた。このように流水中で洗うことにより，処理区のアルコールが流出することを恐れて実験 No. 2 では slice をアルコール処理直後にちよつと水に漬けて洗つただけで直ちに Warburg 装置にかけた。また実験 4, 6, 7, 8 では塊茎半切処理法によつた。1回の測定には5枚の slice を用い，pH 5.3 の燐酸 buffer 2 cc に浮かせて測定を行つた。水槽の温度は 24°C とした。供試品種は 41089—8 であつた。

（b） 実験結果 Table 1 に示すように初期には O_2 吸収は処理によつて僅かに低下する。20 時間後には無処理区では著しい酸素吸収の増加が見られるに反

Table 1. Increase in O_2-uptake of potato tuber tissue treated with ethanol.

No. of Exp.	Hrs. after treatment	O_2-uptake (μl/g. fr. wt./hr.)	
		treated with ethanol	not treated
1	1.0	63.0	66.9
2	1.0	67.8	73.2
3	1.0	77.8	79.2
4	1.5	75.0	78.7
5	4.5	105.2	100.5
6	20.0	176.3	254.9
7	20.0	156.8	207.9
8	24.0	121.5	160.8

Remarks: 1) In Exp. No.1,2,3 & 5 the slices (0.45 mm thick) were plotted in two groups. One group was immersed in 10% ethanol for 10 min. The other one was immersed in water. Then they were washed in running water for 30 min. (Exp. 1, 3) or dipped in water for a short time (Exp. 2). In Exp. 4,6,7 & 8, potato tubers were cut in halves and one half was immersed in ethanol, the other half was immersed in water, and they were kept in a petri dish, and slices from superficial layer were used for determination.

2) In Exp. 8, the tuber tissues were placed at relatively lower temperature (about 15°C), so the increase in respiration has been slowed down.

3) The variety used was 41089-8.

* 北海道農業試験場病理昆虫部病害第2研究室

** 同上第1研究室

して，処理区ではその増加が著しく少ない。即ちアルコールは切断処理による酸素吸収の増加を著しく阻害する。

2. Polyphenol oxidase 活性に対する ethanol 処理の影響

(a) 実験法および材料　前述 O_2 吸収増加に関する実験と同様にしてアルコール処理したもので酵素活性を測定した。即ち処理後初期の酵素力測定では前述の slice 処理法により，また 20 時間後のものの測定では塊茎半切処理法によつて処理したのち所定時間後に表層の slice を作り磨砕した。これを油圧圧搾器で圧搾し汁液をとり，ハイドロキノンを基質として Warburg 法で酸化力を測定 (Gregg and Miller[4]) した。供試材料は 41089-8 である。

(b) 実験結果　Table 2. に示すように Polyphenol oxidase 活性は ethanol 処理によつて阻害され，後期には特に無処理に比べ活性が低い。

Table 2. Polyphenol oxidase activity of the cut surface tissue of potato tuber treated with ethanol.

No. of Exp.	Hrs. after treatment	O_2-uptake (μl/30 min)	
		treated with ethanol	untreated
1	2.0	96.4	105.6
2	2.5	63.2	65.7
3	22.0	61.8	84.1
4	27.0	110.2	149.3

Remarks: 1) The method of ethanol treatment in Exp. 1 and 2, and Exp. 3 and 4, respectively was the same as in Exp. 1 and Exp. 4 in Table 1.
2) Polyphenol oxidase activity of the expressed sap was determined by measuring the volume of oxygen consumed, using hydroquinone as substrate, in the Warbung apparatus.

3. Dehydrogenase 活性に対する ethanol 処理の影響

Thunberg 管を用い，小型 slice を入れて pH 7 Phosphate buffer, glucose 存在のもとで methylenblue 1/8000 M 液の脱色速度を比較した。slice を 2 分して 10 % ethanol で 10 分間処理したものは水で処理したものとの間に処理直後に脱色速度に差を見なかつた。また塊茎半切切断面を ethanol で処理し 20時間をへた後でも，その第 2 層の slice (表層はコルク化しているので避けた。この第 2 層でも呼吸低下が認められる [9]) の脱色速度は無処理との間に差を見ない。しかしこれらの現象は methylenblue の細胞透過性に強く支配されているように見えるので直ちに脱水素酵素の活性に影響を与えないとの結論を下すことはできない。

4. 塊茎組織汁液の pH に対する ethanol 処理の影響

(a) 実験法　前述 "slice 処理法" によつて ethanol 処理した slice (厚さ 0.9 mm) を 5 分間流水洗し，のち大型シャーレ内の沪紙上に並べて，19°C の恒温器中に 24 時間保ち，のち乳鉢中で少量の石英砂と共に磨砕し，水を加えて抽出し 3 時間後沪過して 200cc とした。用いた試料は 200g である。本抽出液は以下にのべる有機酸，貯溜アルコールの検出にも用いた。pH は硝子電極で測定した。実験は 3 回行つた。

(b) 実験結果　Table 3. に見られるようにアルコール処理によつて pH は僅かに低下する。

Table 3. The pH value of the extracted juice of potato tuber tissue treated with 10% ethanol for 10 min.

No. of Exp.	I	II	III
Control	5.9	5.9	6.4
Treated	5.75	5.8	6.2

5. 馬鈴薯塊茎組織内の有機酸に対する ethanol 処理の影響

(a) 実験法　前項 4 に述べた同じ試料を用いペーパークロマトグラフィーによつて有機酸の検出を行つた。試料を水蒸気蒸溜して溜液部 (揮発部) と残液 (不揮発部) に区分し残液はそのまま濃縮して約 20cc 位にして活性炭で糖を除去して更に濃縮して 1cc とする。これを原点に直径 0.5 mm 以内に 5-6 回滴下して展開した。東洋沪紙 No. 50 (40×40 cm) を用い，フェノール：蟻酸 (80%)：水 (7 g : 1% : 3cc) で硝子鐘内で一次元上昇展開 (15～18 時間) を行い Brom phenol blue (90% ethanol 100 cc に 40 mg) によつて発色した。Rf value は Table 4. に示した。

Table 4. The Rf value of pure organic acids.

Organic acids	The authors	Stark[6]	Fujii[3]
Oxalic acid	0.15	0.18	0.21
Tartaric acid	0.18	0.19	0.24
Citric acid	0.27	0.26	0.23
Malic acid	0.40	0.42	0.42
Succinic acid	0.67	0.66	0.66

(b) 実験結果 Table 5 に示されたように処理区では蓚酸，クエン酸，コハク酸が分離された。これに対して対照区では蓚酸，クエン酸の 2 つが分離された。スポットの呈色度及び面積から ethanol 処理により 24 時間後に蓚酸及びコハク酸が増加していることが結論された。この傾向は 2 回の実験を通じて認められた。なお揮発酸として酢酸，蟻酸の顕微化学的検索を行つたが検出できなかつた。これは微量のためであろう。

Table 5. The Rf values of organic acids in the extracted juice of potato tuber tissue treated with ethanol.

Treat. / No. of Exp. / Spots	Treated I	Treated II	Untreated I	Untreated II	Org. acids
1	0.141	0.142	0.14	0.13	Oxalic acid
2	0.268	0.27	0.28	0.25	Citric acid
3	0.73	0.7	…	…	Succinic acid

Remarks: Colors and dimension of spots of oxalic and succinic acid always indicate that the amount of their content is greater in the juice of treated tissue than in that of untreated one. Such a remarkable difference was not observed between the two plots in citric acid contents of treated and untreated tuber.

6. ethanol 処理塊茎組織内における ethanol の検出

(a) 実験法および材料 前項 4 にのべた同じ試料を用い次のようにしてアルコールの検出を行つた。水蒸気蒸溜装置に試料を入れ，蒸溜を行い初溜分約 10 cc をとり Davy 氏反応[2] 及び Agulhon 氏反応[1] でアルコール検出を行つた。実験は 2 回行つた。なお組織内貯溜アルコールが蒸発によつてアルコールを失う時間についての近似的概念を得るためにアルコール処理を行つた生 slice を 2 分して一方を直ちに約 −10°C で 1 時間凍結して直ちに融解してトルオールを一滴宛加えて無処理（アルコール処理を行つた生切片）と共に室温に放置して 3 日後にアルコール検出を行つた。

(b) 実験結果 得られた結果を Table 6, 7. に示した。即ちアルコールは 2〜3 日滞溜し，のち消滅すると見て良いであろう。Table 7. で若干おそかつたのは室温が低かつたことによる。即ち Table 6. では 19〜20°C の恒温器内であり，Table 7. は夜間約

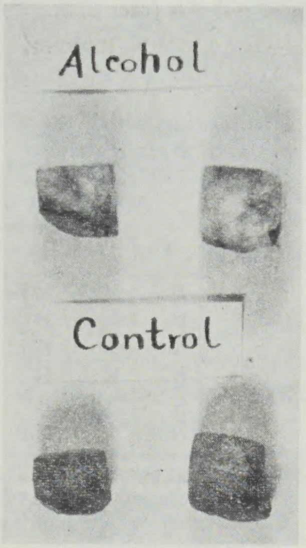


Fig 1.

Effect of ethanol treatment upon resistance to *P. infestans* in potato tuber.

The evident mycelial growth is recognized in treated tuber-block, whereas practically no mycelial growth is seen in the non-treated.

Table 6. Duration of the period within which the existence of alcohol is recognized in the juice extracted from potato tuber tissue treated with ethanol.

Treatment / Hrs. after ethanol treatment	24	48	72
Treated with ethanol	+	±	−
Untreated	−	−	−

Remarks: 1) The distillate from extracted juice was examined by Davy reaction and Agulhon reaction.
2) +: Alcohol recognized.
−: not recognized.

Table 7. The effect of freezing of the slice for 1 hr. immediately after ethanol treatment upon the persistence of ethanol in the tissues.

After treatment / With ethanol	Treated	Untreated
Frozen	++	−
Non-frozen	+	−

Remarks: Alcohol test was made 3 days after treatment.

15°C 程度まで下がる室温であつた。また Table 7. に示した結果からこの ethanol の消失には組織が生きていることが必要であつて，単なる蒸発だけではないと見て良いであろう。

7. 抵抗性低下に対する ethanol 処理の影響の継続時間

(a) 実験法 前述塊茎半切処理法で処理したの

ち簡単に水洗し,所定時間後疫病菌 (race 0) 胞子浮遊液を接種し，のちシャーレに入れ 20°C に保つた。

(**b**) **実験結果** Table 8. に示すようにアルコール処理直後接種区でも処理後 3 日目に褐変が始まる。また処理後 2 日で接種したものでは抵抗性は低下しているが 4 日後接種のものでは褐変を示した。以上からアルコール処理後ほぼ 2 日間は抵抗性は著しく低下しているが，その後回復し始めると結論される。このことは 2 日目に再度アルコール処理を行うと褐変の出現がまた著しく遅延することで証明される。

Table 8. Time during which the effect of ethanol-narcosis* upon the resistance was seen after treatment.

Time of inoculation \ Days after inoculation	Appearance of lesion					Sporulation					
	1	2	3	5	8	1	2	3	5	8	15
Untreated	B	BB	BB	BB	BB	—	—	—	—	—	—
Soon after treated	N	N	B	BB	BL	—	—	—	±	++	+++
5 hrs.	N	N	B ?		BL	—	—	—		++	+++
1 day.	N	NB	B	BB	BL	—	—	—	—	++	+++
2 〃	N	NB	B	BB		—	—	—	—		
4 〃	NB	NB	NB	NB		—	—	—	—		

Remarks: 1) N: No changes, B: Pale brown, BB: Brown, BL: Whole surface of tuber blackish.
2) * The tuber which has been cut in halves was immersed in 10% ethanol for 10 min.

8. 考 察

以上の諸実験を総括すれば次のようになるであろう。酸素吸収は ethanol 処理により僅かに低下するが，その後無処理区では切断処理に対する生体反応の結果として呼吸の著しい上昇を見るにかかわらず，処理区ではその上昇が著しく抑制される。この酸素吸収の低下，呼吸上昇の抑制に対応して Polyphenol oxidase の活性も処理区では無処理区に比べて少ない。酸素吸収及び Polyphenol oxidase 活性のアルコール処理による抑制比率を Table 9. に示した。この表から両者の抑制率が良く一致していることが判る。従来 Polyphenol oxidase が馬鈴薯の呼吸系に参加しているという証明はないとされているが (田川[11]), James[5] etc.)，以上の事定は Polyphenol oxidase が馬鈴薯塊茎の slice の呼吸系で terminal oxidase として関与していることを支持する事実と見做してよいであろう。瓜谷[10] は甘藷で Polyphenol oxidase がチトクローム系と相互に関連している可能性を推定している。

Table 9. O_2 uptake and polyphenol oxidase activity in ethanol-treated potato tuber tissues in comparison with that in untreated ones. (Variety: 41089-8)

Hrs. after treatm.	O_2-uptake $\left(\frac{\text{treated}}{\text{untreated}}\right)\times 100$	Polyphenol oxidase activity $\left(\frac{\text{treated}}{\text{untreated}}\right)\times 100$
1.0	94.1 %	— %
1.0	92.6	—
1.0	98.2	—
1.5	95.3	—
2.0	—	91.2
2.5	—	96.2
4.5	104.6*	—
20.0	69.2	—
20.0	75.4	—
22.0	—	73.4
24.0	75.5	—
27.0	—	73.8

Remarks: * This high value may be attributed to the loss of alcohol from the tissue due to washing in running water for about 4 hours.

一般に麻酔剤の作用は脱水素酵素に働くとの説が多い[9]が，本実験ではその作用を確認できなかつた。しかし処理 slice で pH の低下とコハク酸及び蓚酸の増加が見られた。これは脱水素酵素の活性低下を示唆するように見えるが，ethanol は酸化されて酢酸になると考えられるから，それが一層酸化されてコハク酸，フマール酸，リンゴ酸をへて，あるいはグリオキザル酸をへて蓚酸になるとすれば，必ずしも dehydrogenase の阻害を証明する事実とは考えられない。しかし ethanol が酸化する過程で有機酸の回路が溢れた為にコハク酸及び蓚酸が蓄積したとすれば CO_2 排出，O_2 吸収は寧ろ増加する筈である。事実はこれに反して O_2 吸収，CO_2 排出 (前報告) ともに低下するから，

やはり dehydrogenase の阻害があると想像して良いであろう。即ち ethanol は酸化され有機酸に変化し，同時に呼吸酵素系を阻害して，代謝活性を低下せしめると考えられる。前報告[9]における向合成的な代謝活性の低下はこの為であろう。前報告で示されたRQの低下は ethanol の酸化によつても，有機酸の蓄積によつても起り得る現象である。

ここで 10％ の ethanol が組織内に滲入し得るかどうかにつき考えて見なければならない。10％ ethanol は 2M 弱であつて塊茎の滲透価(通常約 0.25M)に比べれば著しい高張である。そのような高張液に塊茎 slice を浸漬すると脱水を起しそうに思えるが実際は 2Mでもなお重量増加が起ることが Stiles and Jφrgensen[7]によつて示された。彼等はこのことから高濃度の ethanol が細胞内に滲入することを結論した。

このようにして組織内へ滲入した ethanol は，上述のように酸化により，また一部は蒸発により，消失して行く筈である。本実験の条件下 (19～20°C) では約 2 日貯溜し，その後組織内に検出できなくなると考えられる。この期間は第7項に示したようにほぼ ethanol による抵抗性低下の持続期間に相当する。2日目に再度 ethanol 処理を行うと抵抗性は回復せず，褐変発現は再び抑制される。そしてこの ethanol 処理によつて抵抗性低下が起つている間は侵入菌による寄主細胞の細胞死が遅延する。

摘　　要

前報告に引続き ethanol 処理による馬鈴薯塊茎の抵抗性低下の機構について実験を行つた。その結果処理した ethanol は呼吸酵素系を阻害し代謝活性を低めると共にそれ自体酸化され有機酸をへて消失することを推定した。

組織内にアルコールの反応が認められる期間はほぼ ethanol 処理により抵抗性の低下している期間に一致する。 (1956年3月24日受理)

引 用 文 献

1) Agulhon: Bull. Soc. Chim. France, 9: 881. (1911).〔応用黴菌学(宮路憲二著)p.126.昭.13〕.

2) Davy: Chem. Cent., 47: 713. (1876).

3) 藤井光治・浮田実：醱酵工学雑誌，33：17～21. (1955).

4) Greeg, D.C. & W.H.Miller: J. Amer.Chem., 62: 1374～1379. (1940).

5) James, W. O.: Plant respiration. Oxford. (1953).

6) Stark, J.B., A.E. Goodban & H.S.Owens: Anal. Chem., 23: 413. (1951).

7) Stiles, W., & I.Jφrgensen: Ann. Bot., 31: 415～434. (1917).

8) 富山宏平・高瀬昇・酒井隆太郎・高桑亮：日植病報，18：145, 187. (1954)；19：180；20：59～64. (1955)，北農試彙報，71：32～50. (1956).

9) ――――・高桑亮・高瀬昇・酒井隆太郎：日植病報，20：105. (1955)，21：17～22 (1956).

10) 瓜谷郁三・赤沢堯：科学，25：614～620，農業技術，10：553～555. (1955).

11) 田川　隆：生命現象の化学. (1955).

Résumé

In the previous paper[8,9], it was shown that the excitement of metabolism in blight-resistant potato tuber tissue, when infected by *P.infestans*, is inhibited by the pre-infectional ethanol narcosis, resulting in a reduction of the plant's resistance to *P. infestans*. Further studies on this point are reported in the present paper.

The cut surface of halves, or slices of tuber 0.45 mm thick were treated with 10％ ethanol for 10 min., and then washed in running water for some time.

From one to four hours after treatment, the rate of O_2-uptake was found to be lowered slightly (about 8％). About 20 hrs. after treatment, the rate of O_2-uptake in the non-anaesthetized tissue was accelerated remarkably, but in the ethanol treated tissue, such a remarkable increase in O_2-uptake was not observed. So it seems to indicate that the ethanol narcosis strongly inhibits the mechanism of the acceleration of respiration induced by injury in handling. Polyphenol oxidase activity of expressed sap from ethanol-anaesthetized tissue is lower than that from non-anaesthetized tissue. The inhibitory activity of polyphenol oxidase is proportional to the O_2-uptake. This coincidence seems to show that polyphenol oxidase plays a part in the respiratory enzyme system of potato tuber slice. Twenty-four hours after treatment, the extracted juice from ethanol-treated tissue showed lower pH and a greater amount of succinic and oxalic acids than that from non-treated one. It is possible that the increase in oxalic acid content is due to the conversion of ethanol to oxalic acid via acetic, succinic, fumaric, malic acids, etc., but the fact that the respiratory rate is lowered in spite of the increase in or-

ganic acid content, may be explained by the inhibition of dehydrogenase activity.

The above described facts lead the writers to the conclusion that the ethanol inhibits the respiratory enzyme system and lowers the metabolic activity, with the simultaneous conversion of itself to organic acids through oxidation. The period for which the ethanol could be detected by means of Davy and Agulhon reaction in the extracted juice after treatment was about 2 days under the condition pertaining to the present experiments.

The period for which the ethanol reaction was recognized in ethanol-treated tissue, was in coincidence with the period for which the resistance of tuber tissue to the infection of *P. infestans* was kept lowered. When the ethanol treatment was repeated 2 days after initial treatment, the appearance of necrotic brown spots was more delayed. (Hokkaido National Agricultural Experiment Station)

文 献 紹 介

2 種類の銹病菌間の Cross protection.

Yarwood, C. E.: Phytopath., 46 (10): 540～544. (1956).

Cross protection の現象は virus ではよく知られているが，菌類では知られていない。著者は銹病菌を用いてこれを調べた。ヒマワリの葉に *Puccinia helianthi* (ヒマワリの銹病菌) を接種する前に *Uromyces phaseoli* (インゲンマメの銹病菌) の夏胞子を適当量つけておくと，ヒマワリは *P. helianthi* の感染から防がれる。同様にインゲンマメは *P. helianthi* の夏胞子による処理により *U. phaseoli* の感染から防がれる。ヒマワリを *P. helianthi* の感染から 50% だけ protect するには葉面 1 dcm^2 につき約 1.3 mg の *U. phaseoli* の夏胞子を必要とした。これらの菌の胞子の inhibitor はボルドウ液の殺菌力の少くとも 10 倍，ジネブ剤の半分の効力があると計算される。virus では近縁の virus 間のみで Cross protection が起るが，銹病菌では *Puccinia* と *Uromyces* というように異つた属 (genus) の間で起つた。銹病菌のこの特性は，自然界における銹病菌の消長に重要な役割を演じよう。

(宮下真一)

病原菌用くんじよう剤の効果に関する室内実験的研究

Sampton, R. E. & R. A. Ludwig: Can. Jour. Bot., 34: 37～43. (1956).

この論文は殺菌剤の大雑把な検定にもちいられる Dosage response curves の標準型が菌類を目的とするくんじよう剤の性能の比較やくんじよう剤の効力に関係する諸因子の研究などにもちいることができるかどうかを実験したものである。くんじよう剤としては Ethylene oxide および Chloropicrin を，病原菌としては *Alternaria solani, Fusarium oxysporum f. lycopersici, Bacillus subtilis* をもちいた。*A. solani* では最初胞子を寒天培地からあつめ水でよく洗い，直径 9 cm の Watman 沪紙 No. 1 に附着させる。これを乾かしその1部を切りとり，供試くんじよう剤の蒸気に一定時間さらす。0.05% の Orange juice で沪紙から胞子を洗い出し，Slide glass 上で発芽させ 18 時間後の発芽率を調査した。しかし後の実験では沪紙のかわりに直径 1 cm の硅質ガラス盤 (Sintered glass disk) をもちい，これに胞子をうすく播きつけた。真空乾燥後，くんじよう蒸気にさらし，一定時間後，0.05% の Orange juice にひたした沪紙上におき，湿室処理し，胞子の発芽をゆるした。12 時間後ガラス盤をとり出し，うすい濃度のあたためた Methylene-blue で染色し，水洗して発芽率をしらべた。*F. oxysporum f. lycopersici* では Forsberg の方法に従つて糸培養したものを，*B. subtilis* ではしんとう培養に 18 時間つけた木綿糸を一定時間くんじよう蒸気にさらし，後，寒天培養基に移植し，菌の発育の有無をしらべた。くんじよう室は，当初の実験では 525 *l* の鋼釜をもちい，これを減圧して供試剤のガスを導入した。ガスの濃度は容積比によつたが，0.5～10% の範囲であつた。後の実験では 10 *l* の減圧デシケーターをもちいた。くんじよう室内の相対湿度を 0, 50, 100% の3段階に規正した。この結果，両剤とも全般的に相対湿度が高いほど効果も大きいことが分つた。また，Ethylene oxide は湿度の高い場合，施用量を増加してもさして効力は増大しない。しかし湿度の低い場合，施用量の増加は薬剤の効力を加速度的に増大させる。これに対して Chloropicrin は湿度の高い場合，施用量の増加が薬剤の効力を著しく増進させる。じかし湿度のひくい場合，施用量をふやしてもさして効力を増大しないということも分つた。Kaye & Phillip は *B. subtilis* をもちいた実験によつて，Ethylene oxide が相対湿度の増加につれてその効力を減少させるということを報告しているが，筆者らの実験では Ethylene oxide は *B. subtilis* に対して湿度 80% まで効果が高まつてゆき，それ以上では減退してゆくという結果を示した。しかし *A. solani* ではこのような傾向はなく，湿度の増加にともなつて Ethylene oxide の効果も増大した。全体として，菌そのものにたいするくんじよう剤の検定には Dosage response curves の標準型が十分使えることをはつきり示した。

(寺下隆喜代)

有機合成殺菌剤の効力評価に関する研究

第 IV 報 数種の有機合成殺菌剤の Weathering の日数経過に伴う殺菌力の消失

田 村 浩 国*

Hirokuni Tamura: Evaluation of Fungicidal Activity of Organic Fungicides.
IV. The decrease of the fungitoxicity in weathering-process of several organic fungicides.

1. 緒 言

現在市販されている多くの有機殺菌剤は，それ等の有する速効的な殺菌作用が強力であることの必要は言うまでもない。然し有機殺菌剤に限らず農薬それ自体の用途が外気，風土その他諸々の因子が存在する環境下で育成される作物に寄生する病虫害防除が目的である以上，植物体へ撒布した農薬の残効性もまた重要視されねばならない。

農薬の残効性に関する研究は殺虫剤ではかなり多くみられるが，殺菌剤では銅製剤，特にボルドー液[1,2,3]を除けば比較的少く，ことに有機殺菌剤の場合はその実用以来，僅か十数年を経ないので研究も少い様である。然し最近に至つて有機殺菌剤の残効性または附着性に関する研究がなされている。即ち，戸外試験では 1954 年，Rich[4] がセルリー，インゲンの葉上に撒布した Dithane の使用濃度と附着量及び Weathering 過程での附着量の消失について調査している。また 1955 年，石井[5]等はキク，ツバキ，キウリ，ボタン等の葉上へ散布した Dithane の Weathering 過程について報告した。その他 1954 年，梶原等[6]は銅製剤と一緒に Dithane, Captan を水稲に撒布した際，同時においたスライドガラス上に附着したものについて室内生物試験によつて残効性を調査している。次に室内試験による Weathering 過程での殺菌力の消失については 1955 年，筆者[7]が Pyrazol 系化合物について報告したが，その後 Dithane, Phygon, Spergon, Captan 及び Arasan の各有効成分について温室内で乾燥および湿潤状態下で Weathering test（室内のため気象的因子のうち降雨，風の影響は除かれる）を行い，殺菌力の消失推移を調査したのでここに報告する。

2. 実験の条件と材料

本実験は 1954 年 12 月 17 日から 1955 年 3 月 4 日にわたつて行い，Weathering test は農技研温室内（実験中の温度は平均 24°～25°C）で実施した。

供試した有機殺菌剤とその有効成分は次の通りである。

1.	Dithane—Z 78	Zinc ethylene bis dithiocarbamate
2.	Phygon—XL	2. 3-dichloro-1. 4-naphthoquinone
3.	Spergon	tetrachloro-p-benzoquinone
4.	SR—406	N-(trichloromethylthio)-4-cyclohexene-1. 2 dicarboximide
5.	Arasan	bis (dimethyl thiocarbamoyl) disulfide

これ等の各有効成分の既知濃度液の調製には，Dithane の有効成分はピリヂンで溶解し，その他はベンゼンで溶解し，0.01mg～1.0mg/ml とした。

供試病原菌は京大農学部で分離した稲熱病菌（*Piricularia oryzae*）の 2 号菌である。

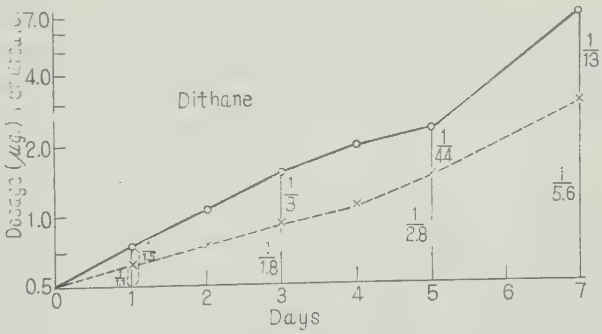


Fig. 1. (a) The ED 95 values and the rate of decrease of active ingredients of Dithane, Phygon, Spergon, SR- 406 and Arasan for spore germination of *P. oryzae* as subjected to weathering in the greenhouse (average temp. 24-25° C.) under dried or moist conditions.

* 農林省農業技術研究所

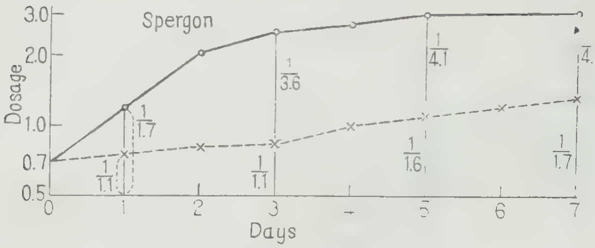


Fig 1 (b)

3. 実験操作

供試有機殺菌剤の各有効成分の *P. oryzae* の胞子発芽抑制に対する ED 95 値は既に測定[8]してあるので，これ等の ED 95 値を基準薬量として，各有効成分の既知濃度液をピペットでペトリ皿に所要量を注加して，常温 (13°〜20°C) で乾燥後ペトリ皿をそのままの状態，及び同時に薬液が乾燥後，湿潤状態にするためにペトリ皿の底面部に附着した有効成分が被覆する程度に約 1.5 ml の蒸溜水を注入して湿潤性をあたえた。そしてこれ等の処理したペトリ皿を温室内の採光のよい場所に保置し，1 日ないし 7 日間 Weathering 後ペトリ皿法によつて *P. oryzae* の胞子発芽抑制に対する ED 95 値を測定すると共に，各有効成分の direct action における ED 95 値を基準 I として殺菌力の消失比を算出した。その結果は，それぞれ第 1 図に示した通りである。

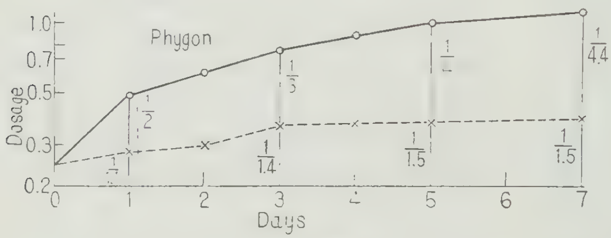


Fig 1 (c)

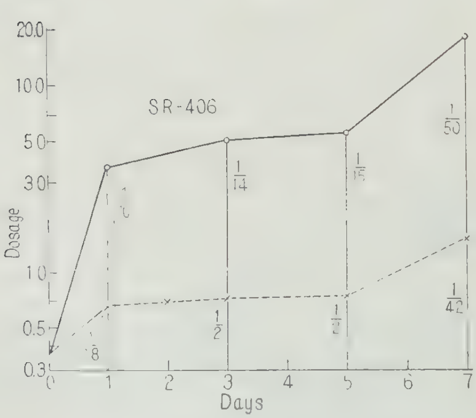
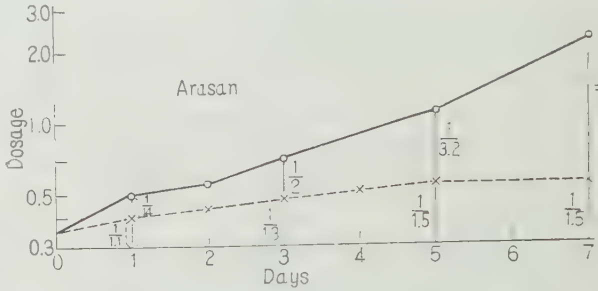


Fig 1 (d)

4. 結果及び討論

この実験では撒布殺菌剤が植物体に乾燥附着した場合，及び露滴等による湿潤条件下における効力の消長を究明する一手段として前述のペトリ皿を用いて乾燥，湿潤条件下での各殺菌力の消失を調べたのであるが，附図の如くいずれも供試した各有効成分は乾燥状態で放置したときよりも湿潤状態における殺菌力の消失比が日数経過毎に2〜6倍大きくなつていることが注目される。ことに SR—406 の有効成分の場合は 7 〜10 倍以上と更に大きい。従つてどの有効成分も降雨が多いか，湿度の高いところでは殺菌力の消失が大きいので，残効性の点について考慮されねばならない問題であろう。次に乾燥状態ではいずれも湿潤のときに比べてはるかに殺菌力の消失は小さく，消失比も 7 日経過後でも 1/2〜1/5 程度に止まつている。なお個々の有効成分の殺菌力の消失推移を検討してみよう。先づ Dithane (有効成分を指す) は 5 日経過後までは殺菌力の消失比は乾湿両状態下でも 1/3〜1/5 であつてそれ程大きくなかつたが 7 日後では急に増大した。これを梶原等[6]の結果と比較すると，Dithane の稲胡麻葉枯病菌胞子の発芽抑制力は 3 日後で 50% 内外，6 日後では 10% 内外であつて本実験の消失過程と類似している。また石井等[5]の試験は戸外の植物について行われたものであるから直接の比較は無理と考える



note 1 (1) Number in figure shows the rate of decrease.
(2) — moist condition
… dried condition

Fig 1 (e)

が，試みに対照してみると，ツバキ，コマツナの葉上への冬季撒布およびボタン，ツバキの葉上へ夏季撒布した Dithane の消失過程がやや類似した程度で，その他の植物の撒布試験では冬季では残効性があり，夏季では消失の増大が示されている。筆者の実験は主として冬季中に行われているため消失過程は比較的緩やかであるが夏季には更に消失がはやく，その比も倍増することは石井等の結果から推して疑いないと思う。Phygon は供試した有機殺菌剤のうちで殺菌力の消失比が乾，湿状態ともに最も小さく，ことに乾燥では3日〜7日後までは殆んど消失していない等の結果から推して残効性のある殺菌剤と思われる。ただし Spergon と同様にキノン系殺菌剤は極めて光分解[9]し易いことが強調されている。然し冬季の実験期間中では光度が小さいためかこの影響は殆んど認められなかつた。Spergon もまた Phygon の消失過程と全く似た結果を示した。かように本実験ではキノン系殺菌剤は残効性が認められるが，実際に戸外で撒布した結果の多くが逆な現象を示すことは前記の光分解等も含めて更に検討を要する。

SR—406 は本実験のうちで最も乾湿間での殺菌力の消失比に懸隔の差があり，とくに湿潤下での7日後では実に $^{1}/_{50}$ までに低下しており残効性は全く考えられなかつた。然し乾燥下では Weathering 中の消失比は，実験期間中を通じて比較的に緩やかで7日後でも $/_{4}$ 内外の低下に止まり，残効性の可能も考えられる。かように乾，湿間での殺菌力の消失比に差があることは SR—406 が湿潤下では加水分解その他の影響をうけて不安定態となり，殺菌力を消失するものと推定される。最後に Arasan の消失過程は，乾湿状態ともに Phygon, Spergon の結果と類似している。Weathering 中の消失比は両状態いずれでも小さいことから，この殺菌剤の残効性はかなりすぐれているように思われた。

5. 要　約

Dithane, Phygon, Spergon, SR—406, Arasan の残効性を確める一助として，これ等有機殺菌剤の各有効成分について Weathering 過程中における ED 95 値を測定し，直接殺菌作用による ED 95 値を基準とした殺菌力の消失比を算出して残効性を検討した。

1. Weathering test は温室内（平均 24°〜25°C）で行い，供試した各有効成分の殺菌力の消失過程は乾燥および湿潤の両状態下について調査した。

2. 乾燥状態下での Weathering 期間毎の各有効成分の消失比は，比較的に小さく平均 $^{1}/_{2}$〜$^{1}/_{5}$ に止まつた。特に Phygon, Spergon, Arasan の各有効成分は1日〜7日の Weathering 中の消失比は平均 $^{1}/_{1.5}$ であり，殆んど消失の傾向が認められなかつた。

3. 湿潤状態下における殺菌力の消失比は，各有効成分とも乾燥の場合よりも大きい。すなわち SR—406 を除く他の有機殺菌剤の有効成分は，各期間毎に消失比が平均 $^{1}/_{2}$〜$^{1}/_{4}$ であつたが，SR—406 の有効成分は平均 $^{1}/_{7}$〜$^{1}/_{10}$ に低下した。

4. 以上の実験結果からでは Phygon, Spergon および Arasan は残効性のすぐれた殺菌剤と推定される。(1956 年 2 月 4 日受理)

引用文献

1) Goldsworthy, M. C. & Green, E. L.: J. Agr. Res., 52: 517〜533. (1936).
2) 田中彰一：植物病害研究, 4: 149〜159. (1951).
3) 橋岡良夫：農及園, 28 (2): 595〜600. (1953).
4) Rich, S.: Phytopath., 44: 203〜213. (1954).
5) 石井賢二・河村貞之助：日植病報, 19 (3, 4): 155〜157. (1955).
6) 梶原敏宏・高梨和雄・水沢芳名：農技研病理科中間報告, 7: 104〜107. (1954).
7) 田村浩国：農技研報告, C 5: 1〜16. (1955).
8) 田村浩国：農技研報告, C 4: 95〜107. (1954).
9) McNew, G.L. & BURCHFIELD, H.P.: Cont. Boyce Thomp. Inst., 16: 357〜367. (1951).

Summary

The known amounts of the active ingredients of Dithane, Phygon, Spergon, SR-406 and Arasan solved in solvents put into petri dishes respectively, and then exposed under dried and moist conditions in a greenhouse (average temp. 24°C-25°C.) for 1 to 7 days.

The petri-dish germination was used for the determination of the ED 95 values for each ingredients with rice blast fungus, *Piricularia oryzae*.

The decrease of fungitoxicity was observed in all chemicals under both conditions, but it was more remarkable under moist than dried condition. Among the tested chemicals, Phygon, Spergon and Arasan were relatively tolerant to the effect of weathering.

(National Instiute of Agricultural Sciences)

日本におけるカボチャ・モザイク病に関する研究

I. 病徴，寄主範囲及び伝染方法

小 室 康 雄*

YASUO KOMURO: Studies on a mosaic disease of squash in Japan. I. Its symptoms, host range and transmission.

I. 緒　言

関東地方ではカボチャ・モザイク病の発生が頗る多い。日本カボチャ**では比較的少いが，西洋カボチャにおける発生はごく普通にみられる。カボチャ・モザイク病はわが国においては1930年頃から注意を惹いたもののようで，福士[8]によると、日本カボチャ，日野[9]によると日本カボチャ，西洋カボチャ，ナタウリにモザイク或はバイラス病がそれぞれ認められているし，滝元[14]も罹病葉の写真を撮つておられる。しかしその病原バイラスについての研究は殆んど見当らず，一般にはキュウリ，メロンなどを侵すバイラスとほぼ同種のものと考えられてきた。所が著者ら[10]の調査によると関東地方でモザイク症状を呈しているカボチャからはキュウリ・モザイク・バイラス (CMV) は殆んど分離されないか，または低率であつて，日本カボチャ，西洋カボチャのモザイク・バイラスはCMVとは別種のものであることを示唆した。外国でカボチャを侵すバイラスとしては CMV[1,4], tobacco ring spot virus[12,17,18]のようにその寄主範囲の広いものの他，寄主範囲が或程度狭いバイラスが約10種[1,2,3,4,5,6,7,13,15,16]程知られている。そこでわが国のカボチャ・モザイク・バイラスをこれらと比較同定するため，先ずその病徴，寄主範囲，伝染方法などについて調査研究したので，その結果をここに報告する。実験はすべて1950～53年に東京大学農学部ガラス室内で行つたものである。実験中，終始懇切な指導を賜つた明日山教授に対し衷心より感謝の意を表する。

II. 実験材料及び方法

（1） 供試バイラス　最初に用いた接種源は1950年4月東京大学農学部圃場内で採集した西洋カボチャ罹病株である。しかしその後バイラスの適当な越冬性植物が得られず，また当時ガラス室が加温されなかつたため，病植物を越冬させることも出来ず材料を失うに至つた。そのため 1951～53 年に用いた接種源は何れも毎年構内に発生する西洋カボチャ・モザイク株である。これらは何れも実験結果から見れば同一種に属するバイラスと認められる。

（2） 供試植物及び接種方法　供試植物はすべてガラス室内で育て，適宜硫酸ニコチン或はニッカリンTの撒布を行いアブラムシを防除した。汁液接種にはカーボランダム法を用いアブラムシ接種は健全トルコタバコ及びキュウリ上で飼育したものを用いた。アブラムシ操作には毛筆を使用し，病植物を吸汁させる前に特に絶食させるような手段はとらなかつた。ウリハムシの採集及び操作には特殊のガラス管を用いた。

III. 実　験　結　果

A. カボチャにおけるモザイク病の発生と病徴

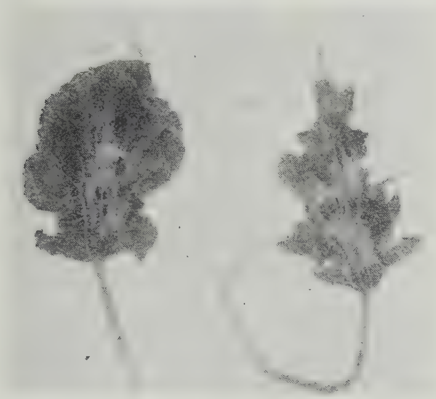
圃場では一般に西洋カボチャに発生が多く，日本カボチャでは少い。共にごく小さな苗の時代からも感染がみられるが，一般には夏季高温になる頃から発病が目立つようになり，この傾向は西洋カボチャで特に著しい。病徴は mosaic で，ごく若い苗が感染したような場合は相当著しい奇型を伴うが，西洋カボチャ，日本カボチャでは奇型は普通それ程著しいものではない。葉脈に沿つた部分だけが緑色に残り，いわゆる vein-banding を呈することもある。ナタウリでは mosaic 病徴を呈するほか一般に奇型が著しいようである。CMV に対し，日本カボチャは全身感染せず，西洋カボチャ，ナタウリは全身感染するが，西洋カボチャが自然で CMV に感染している例はごく稀で，ナ

---

*　東京大学農学部

**　牧野富太郎博士は *Cucurbita moschata* をトウナス（ボウブラ），*C. maxima* をポンキン，*C. Pepo* をナタウリとし，並河功博士は，これらをカボチャ，クリカボチャ，ポンキンとそれぞれ呼んでおられる。一般には日本カボチャ，西洋カボチャ，ナタウリ（ペポ）と呼んでいるようであり，この方がわかりやすいように思うので本論文ではこの名を採用することにした。

タウリは約 50％位である。従つて自然でモザイクを呈している日本カボチャ及び西洋カボチャの大部分及



第1図　西洋カボチャ（黒皮甘栗）病葉にみられる奇型

びナタウリの約半数は本論文で対象とするバイラスに侵されていると考えられる。

汁液接種試験により感染したカボチャ罹病株の生長点に近い葉をみると，CMV により感染がおきる西洋カボチャ，ナタウリでは chlorotic spot が現われ，後互に集合して mosaic になつてゆく傾向がみられる。一方カボチャ・モザイク・バイラスによる場合は chlorotic spot を生ぜず，vein-clearing に始まつて mosaic に進むように観察される。この他，CMV はナタウリに稀に若干の奇型を伴うが，カボチャ・モザイク・バイラスでは奇型を伴うことがよくみられる。この2点がカボチャにおける両バイラスの病徴の大きな差ということができる。この特徴は他の植物上においては見られるものではない。後に述べるように本バイラスはキュウリ，メロンなどには殆んど奇型を生ぜず，トウガではその生長点に chlorotic spot の病徴を示すのである。

B.　汁液接種試験による寄主範囲と数種植物上における病徴

1950 年 4 月に行つた汁液接種試験の結果を示すと第1表のようである。

この結果から本バイラスは容易に汁液接種により伝搬されるバイラスで，カボチャの他，キュウリ，シロウリにも感染するが，他の数種植物には CMV と異なり寄生性のないことが明らかになつた。そこで1950〜53 年に亘り，各種植物に接種し，寄主範囲を調べ，併せて越冬植物をも明らかにしようとした。その結果は第2表に示す通り 25 科 73 種中，感受性の認められた植物は2科 10 種で，ウリ科以外ではアカザのみであつた。

第1表　数種植物に対する本バイラスの汁液接種試験結果

接種植物名（品種名）	接種数	発病数	主な病徴	備　考
キュウリ（落合節成）	3	2	vein-clearing	戻し接種により vrius を回収。
西洋カボチャ（黒皮甘栗）	6	4	mosaic, malformation	
シロウリ（東京早生）	4	3	mosaic, malformation	
トルコタバコ	5	0		戻し接種により virus 回収されず。
グルチノザ	3	0		
ヒャクニチソウ	3	0		
ソラマメ（早生）	3	0		

キュウリ，メロン，ヘチマ，スイカ，カラスウリの病徴はいずれも不明瞭で，時期によつては全く病徴を示さず，保毒していることもある。かすかな vein-clearing が生長点附近の葉に現われ，それ以上病徴を示さないのが普通で，時にかすかな mosaic，黄化を呈することがある。トウガ，ユウガオでは初めその生長点附近の葉に chlorotic spot を現わし（第2図）それが mosaic に進展するが，奇型葉は殆んどみられない。（この病徴の発現は CMV をキュウリに接種した時のそれに似ている。ただし CMV はトウガ，ユ

第2表　各種植物に対する本バイラスの汁液接種試験結果

（a）感染の認められた植物

科　名	植物名（品種）
Cucurbitaceae（ウリ科）	日本カボチャ（白皮砂糖，会津早生，黒皮縮緬），西洋カボチャ（デリシャス，黒皮甘栗），ナタウリ（テーブル・クイーン），キュウリ（落合節成，加賀青長節成），メロン（パール）*，シロウリ（東京早生）*，ヘチマ，トウガ，ユウガオ（大長），スイカ（ヤマト），カラスウリ
Chenopodiaceae（アカザ科）	アカザ

注：*を附した植物は1種として数えた。

（b） 感染の認められなかつた植物

科名	植物名（品種）
Compositae（キク科）	ヒャクニチソウ，シュンギク，マリーゴールド，キンセンカ，ダリア(実生)
Rubiaceae（アカネ科）	アカネ，ヤエムクラ
Plantaginaceae（オオバコ科）	オオバコ
Pedaliaceae（ゴマ科）	ゴマ
Scrophulariaceae（ゴマノハグサ科）	ビロード•モウズイカ，キンギョソウ
Solanaceae（ナス科）	ナス(真黒)，トマト(ポンデローザ)，チョウセンアサガオ，イヌホオズキ，トルコタバコ，グルチノザ，ペチユニア，トウガラシ(米国巨大)
Lamiaceae（オドリコソウ科）	シソ，ハッカ，サルビア
Ehretiaceae（ムラサキ科）	ワスレナグサ
Convolvulaceae（ヒルガオ科）	アサガオ，ルコウソウ
Apocynaceae（キョウチクトウ科）	ニチニチソウ
Primulaceae（サクラソウ科）	カンザクラ，トキワザクラ
Apiaceae（セリ科）	セルリー，ミツバ，ニンジン(東京鮮紅大長)
Violaceae（スミレ科）	パンシー
Balsaminaceae（ホウセンカ科）	ホウセンカ
Leguminosae（マメ科）	ササゲ(十六,姫,金時)，アズキ(大納言)，インゲン(白黒,マスターピース)，ダイズ(農林1号,生娘)，エンドウ(仏国大莢)，ソラマメ(早生,一寸)，ヤエナリ ルーピン
Cruciferae（ナタネ科）	ダイコン(美濃早生,時無)，ヨウシュナタネ，カブ(金町早生)，カンラン(富士早生)，イヌガラシ
Papaveraceae（ケシ科）	ヒナゲシ，アザミゲシ，ハナビシソウ
Caryophyllaceae（ナデシコ科）	ハコベ，ムシトリナデシコ，セキチク，ミミナグサ，スイセンノウ
Porulacaceae（スベリヒユ科）	スベリヒユ
Mesembrianthemaceae（ツルナ科）	ツルナ
Amarantaceae（ヒユ科）	センニチコウ，イノコズチ
Chenopodiaceae（アカザ科）	ホウレンソウ，フダンソウ
Araceae（テンナンショウ科）	サトイモ
Poaceae（イネ科）	トウモロコシ(ロング・フエロー)

ウガオに接種しても local lesion を生ずるだけで全身感染はしない)。シロウリの病徴及びそのでかたはカボチャに似ており mosaic も明瞭で，その奇型は著しい。これら病徴はいずれも接種後 7〜10 日前後に現われるのが普通である。アカザでは接種後 7〜14 日で接種葉に或程度大型の local lesion が現われる（第3図)。



第2図 本バイラス接種により，トウガの生長点付近の葉にみられる chlorotic spot の病徴



第3図 本バイラスの接種によりアカザに生ずる local lesion の病徴

C. ウリハムシ及び蚜虫による伝搬試験

関東地方ではカボチャを始めウリ科植物にウリハムシの着生が普通にみられる。アメリカでは或種のハムシにより或ウリ類バイラスが媒介されることが知られているので[5,6,7]，本バイラスがウリハムシによつて媒介されるか否かについて調べた。汁液接種によりモザイク症状を呈している西洋カボチャ(黒皮甘栗)上に予め健全キュウリ上で飼育したウリハムシを飼育し，24，48 時間加害させた後，それぞれ健全西洋カボチャに移した。供試植物1本につきウリハムシ5匹を 24 時間放飼した。24 時間後これらを除去し，その供試植物の発病の有無を調べた。その結果は第3表に示される通り，発病は認められず本バイラスのウリハムシによる媒介は行われないようである。

第3表　本バイラスのウリハムシによる伝搬試験結果

病植物加害時間	発病数／供試数	
	1950年	1951年
24 時	0/3，0/3	0/3，0/3
48 時	0/4，0/3	0/4，0/2

次に自然でカボチャに着生の多いワタアブラムシ (*Aphis gossypii*) について媒介試験を行つた。比較のためモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) も平行して供試したがその結果を第4表に示す。なおワタアブラムシは健全キュウリ，モモアカアブラムシは健全トルコタバコ上に飼育したものを用い，供試植物数は各区5本とし，着生アブラムシ数はそれぞれ 1，5，10 匹とした。病植物吸収，供試植物加害時間は共に 24 時間とした。

第4表　本バイラスのワタアブラムシ，モモアカアブラムシによる媒介比較試験結果

アブラムシ数／実験区／アブラムシの種数	1匹			5匹			10匹		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
ワタアブラムシ	4	3	2	5	5	5	5	5	5
モモアカアブラムシ	3	3	2	5	5	4	5	5	4

注：各欄の数字は供試植物 5 本中感染した数を示す。実験区 I，II は 1952 年，III は 53 年に行つたものである。供試植物は西洋カボチャ(黒皮甘栗) である。

本バイラスは第4表に示したように，ワタアブラムシ，モモアカアブラムシによつて容易に伝般される。1匹の加害でも約 60 % の発病がみられ，5 匹の加害で約 100 % 発病し，これらアブラムシによる伝搬率はかなり高く両アブラムシの間で本バイラス伝搬力には差が見出せなかつた。なお，東京附近の圃場のカボチャにはモモアカブラムシは殆んど観察されない。

D. 種子伝染試験

ウリ科植物のバイラス病には種子伝染するものが知られている[4,11,18 等]。カボチャ・モザイク病はわが国では発病が極めて多く，しかもバイラスの越冬植物と考えられるものも見当らないので相当高率な種子伝染をするのではないかと推測し調べた。

1951 年病株より採種した西洋カボチャ（黒皮甘栗）3果，1952年採種した西洋カボチャ（デリシャス）2果を，それぞれ翌春ガラス室内で殺菌土壌に播種し本葉4～5枚になる迄観察した。その結果黒皮甘栗では $^{0}/_{132}$，$^{0}/_{58}$，$^{0}/_{175}$，デリシャスでは $^{0}/_{112}$，$^{2}/_{189}$，の発病株を示し，黒皮甘栗では種子伝染がみられなかつたが，デリシャスの1果では認められた。その伝染率はデリシャスで約 0.6 % という予期に反し低いものであつた。しかし実験数も少く，今後更に多くの品種につき感染時期の差なども考慮して追試する必要があると思う。

IV. 考　察

カボチャ・モザイク病の発生は関東地方では西洋カボチャに多く日本カボチャに少い。西洋，日本カボチャそれぞれ 2～3 品種を用い，汁液接種により比較してみたが，日本カボチャも西洋カボチャと同様な発病数を示しその差が認められなかつた。圃場における場合と異る結果を得たのは，接種方法が適当でないためか或は圃場におけるアブラムシ類との関係によるのか，両種間の種子伝染率の差などによるのか明らかでない。

本バイラスの寄主範囲は汁液接種により調べた所，極めて狭くウリ科植物，アカザにのみ限られていた。この点は本バイラスが CMV 或は tobacco ring spot virus とは明らかに別種のものであることを示す。所で本バイラスの寄主範囲の狭いことと種子伝染が極めて低率であることを考え併せると，自然での毎年の伝染環に大きな疑問が残る。カボチャの罹病株は殆んどすべて冬期枯死してしまうのであり，かつ適当な越冬植物は見当らない。問題と思われるのはカラスウリである。カラスウリは宿根性で本バイラスに感染し，軽い病徴を示すが，前にモザイク症状株について調べた結果では[10]，すべて CMV が分離されている。自然で病徴の認められない或は軽いカラスウリに本バイラスが保毒されているかどうかについては今後調べる必要があろう。種子伝染の検討などとともに本バイラスの伝染環に関する研究は今後の興味ある課題である。

本バイラスはアブラムシ類によつては伝搬される

がウリハムシによつては媒介されない。寄主範囲の狭いウリ科植物を侵すバイラスの中にはアブラムシによつては媒介されず，ハムシ類によつて媒介されるものも知られているが[5,6,7]，本バイラスはこれらバイラスとは異るものと考えられる。しかしアブラムシなどにより媒介されるウリ科植物のバイラスには数種あるので，これとの比較同定は本バイラスの物理的性質などを明らかにした上で考察することにする。

V. 摘　　要

1) 関東地方で発生の多いカボチャ・モザイク病バイラスについて実験を行つた。カボチャ上における病徴は mosaic で，時に veinclearing, veinbanding を伴い，奇型も観察される。奇型は初期に感染したもので特に著しい。病徴は一般に日本，西洋カボチャに比べナタウリで激しいようであり，病株の発生は日本カボチャに比べ西洋カボチャに多いもののようである。

2) 本バイラスは汁液接種により容易に伝搬され，またワタアブラムシ，モモアカブラムシによつても媒介されるが，ウリハムシによつては媒介されない。種子伝染は西洋カボチャのデリシャスでは 0.6％の発病を認めたが，黒皮甘栗では陰性であつた。

3) 25 科 73 種の植物に汁液接種した結果，感染したのはウリ科植物（キュウリ，メロン，トウガ，シロウリなど）及びアカザの 2 科 10 種の植物に過ぎず，本バイラスは寄主範囲の狭いバイラスと言えよう。この寄生性の点からも本バイラスは CMV や tobacco ring spot virus とは別種と考えられるが，その物理的性質などを調べた上で，その他のウリ科植物バイラスと比較し同定を行うつもりである。

(1956 年 6 月 21 日受理)

引 用 文 献

1) Ainsworth, G. C.: Ann. Appl. Biol., 22: 55～67. (1935).
2) Anderson, C. M.: Plant Dis. Reptr., 35: 396～398. (1951).
3) Aycock, R.: Phytopath., 41: 2. (1951).
4) Doolittle, S. P.: U. S. Dept. Agric. Bul., 879. (1920).
5) Freitag, J. H.: Phytopath., 31: 8. (1941).
6) ―― : ibid., 42: 8. (1952).
7) ―― : ibid., 46: 73～81. (1956).
8) 福士貞吉： 札幌博物学会々報，12: 130～141. (1932).
9) Hino, I.: Bull. Miyazaki Coll. Agric. & Forest., 5: 97～111. (1933).
10) 小室康雄・明日山秀文： 日植病報，20: 77～82. (1955).
11) Middleton, J. T.: Phytopath., 34: 405～410. (1944).
12) Price, W. C.: Amer. J. Bot., 27: 530～541. (1940).
13) Rader, Wm. E., Fitzpatrick, H. E., Hildebrand, E. M.: Phytopath., 37: 809～816. (1947).
14) 滝元清透： 花卉及温室作物の病害，142～143. 養賢堂. (1939).
15) Vasudeva, R. S. & Lal, T.B.: Indian J. Agric. Sci., 13: 182～191. (1943). (R. A. M 23: 125～126, 1944).
16) ――, Raychaudhuri, S. P. & Singh, J.: Indian Phytopath., 2: 180～185. (1949). (R. A. M., 30: 259～260, 1951).
17) Wilkinson, R. E.: Phytopath., 42: 23. (1952).
18) Wingard, S.A.: J. Agric. Res., 37: 127～153. (1928).

Summary

A mosaic disease of squash (*Cucurbita maxima*) and pumpkin (*C. moschata* and *C. Pepo*) occurs extensively in the Kanto District in Japan. Its initial spmptoms consist of faint veinclearing and green leaf mottling, developing into a mosaic. The typical veinbanding with dark green raised areas is infrequently observed. The most conspicuous and spectacular symptom is the presence of filiform leaves, infected leaves are reduced to only the veinous system with patches of green mesophyll, followed by a severe distortion of leaves, especially when the plants have been infected in their early stage of growth.

The virus isolated from squash was readily transmissible by mechanical inoculation with carborundum, or by aphids, viz. *Aphis gossypii* and *Myzus persicae*, but not by cucumber beetle, *Aulacophora femoralis*. It was found to be seed-borne in a certain variety of squash, although the percentage of infection was low (0.6 %).

The virus was capable of infecting plants of 10 species in 2 families among 73 species in 25 families tested. Systemic infection was obtained on squash, pumpkin, cucumber, melon, oriental pickling melon (*Cucumis Melo* var. *Conomon*), white gourd (*Benincasa hispida*), white flowered gourd (*Lagenaria leucantha*) etc. Local necrotic spots was developed on *Chenopodium album*. From these results, the virus seems to be practically confined to the Cucurbitaceae. Accounts of the physical properties and identification of the virus will be given in the next paper.

(Faculty of Agriculture, Tokyo University)

Taxonomic Studies on the Capnodiaceae III. On the species of the Chaetothyrieae

By

Wataro YAMAMOTO*

1. **Chaetothyrium echinulatum** YAMAMOTO sp. nov.

Coloniis epiphyllis, late effusis, tenuissime crustaceis, strigosis, cinereo-fuscis vel fusco-brunneis; mycelio dense intertexto, ex hyphyis dense irregulariterque ramosis, anastomosantibus, dematioideis, subhyalinis vel fusco-brunneis, minutissime echinulatis, 3–4.5 μ crassis, cellulis oblongis vel subcylindraceis et 7–15 μ longis composito; setis mycelialibus numerosis, simplicibus, rectis vel leniter curvatis, apice obtusis, atris, opacis sed superiore subpellucidis, 168–322 μ longis, ad basim 7–8 μ crassis, interdum hyphis hyalinis usque ad apices setarum repentibus et tectis; peritheciis subgregariis, globoso-depressis, indistincte ostiolatis, siccis apice collabentibus, glabris, subcoriaceis, atris, 170–238 μ diam.; ascis subcylindraceis vel ellipsoideo-cylindraceis, apice rotundatis, brevissime pedicellatis, octosporis, aparaphysatis, 46–65 × 11–14 μ; sporidiis 2–3-stichis, oblongis vel ellipsoideo-oblongis, utrinque rotundatis vel obtusis, rectis vel leniter curvatis, ad septa non constrictis, hyalinis, 13–21 × 4.5–5 μ.

Hab. On *Citrus maxima*. *Formosa*: Prov. Taihoku: Sinten (III–16, 1941, W. YAMAMOTO, *type*).
On *Bladhia Sieboldii*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).
On *Citrus Tankan*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.)
On *Euphoria Longana*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.).
On *Itea chinensis* var. *subserrata*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.)
On *Lasianthus plagiophyllus*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.).
On *Phyllostacys Makinoi*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.)
On *Styrax suberifolius*. Prov. Taihoku: Sekitei (W. Y.).

2. **Chaetothyrium Sawadai** YAMAMOTO sp. nov.

Chaetothyrium strigosum (SAWADA) YAMAMOTO, (non FRASER) in schad.

Hypocapnodium strigosum SAWADA, nom. seminud. Stud. Citrol. III, p. 255, 1929; Descr. Cat. Form. Fung. V, p. 22, 1931.

Coloniis epiphyllis, late effusis, tenuissime crustaceis, strigosis, cinereo-brunneis; mycelio dense intertexto, ex hyphis dense irregulariterque ramosis, dematioideis, anastomosantibus, subhyalinis vel dilute brunneolis, 2.5–4.5 μ crassis, cellulis oblongis vel subcylindraceis et 6–18.5 μ longis composito; setis mycelialibus numerosis, simplicibus, rectis vel parum curvatis, apice obtusis, fuscis vel fusco-brunneis, opacis sed superiore pellucidis, 84–238 μ longis, ad basim 3–7 μ crassis; peritheciis sparsis vel subgregariis, globoso-depressis, subcoriaceis, fusco-brunneis, indistincte ostiolatis, 23–53-setosis, 120–182 μ diam.; setis perithecialibus simplicibus, rectis vel leniter curvatis, apice obtusis, atris vel fusco-brunneis, opacis sed superiore pallidioribus et subpellucidis, 84–210 μ longis, ad basim 5–7 μ crassis; ascis clavatis vel clavato-cylindraceis, apice late rotundatis, breviter pedicellatis, octosporis, aparaphysatis, 41–60 × 11.5–16 μ; sporidiis clavatis, interdum elongato-ovoideis, utrinque obtusis vel rotundatis, 3–5–septatis, ad septa non constrictis, e hyalino subhyalinis, 21–30 × 5–7 μ.

Hab. On *Citrus maxima*. *Formosa*: Prov. Taihoku: Seisiryo (III–15, 1942, W. YAMAMOTO, *type*). Prov. Tainan: Mato (W. Y.). Prov. Sintiku: Simpo (W. Y.).
On *Citrus poonensis*. Prov. Sintiku: Sansa (W. Y.).
On *Citrus Tankan*. Taihoku: Taihoku (W. Y.); Sinten (W. Y.); Seisiryo (W. Y.).
On *Euphoria Longana*. Prov. Taihoku: Kokanron (W. Y.).

* Laboratory of Plant Pathology, Hyogo University of Agriculture.

3. **Triposporiopsis spinigera** (v. Höhn.) Yamamoto comb. nov.

Limacinia spinigera v. Höhn., Sitzb. K. Akad. Wien, Math-Naturw. Kl. CXVI, Abt. i, p. 100, 1907; Sacc. Syll. Fung. XXII, p. 62, 1912.

Chaetothyrium spinigerum (v. Höhn.) Yamamoto, Jour. Soc. Trop. Agr. (Formosa), XIII, p. 221, 1941.

Hypocapnodium mikanum Hara, Path. Agr. Plant. p. 557, 1930; Fungi I, n. 2, p. 15, 1931.

Hypocapnodium quercifolium Hara, Fungi, I. n. 2, p. 17, 1931.

Hypocapnodium Citri Sawada, Stud. Citrol. III, p. 254, 1929; Descr. Cat. V, p. 21, 1931.

Hypocapnodium sp. Yamamoto, Ann. Phytopath. Soc. Japan, VIII, p. 101, 1938.

Hab. On *Callicarpa formosana*. *Formosa*: Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Citrus Limon*. Prov. Takao: Heito (W. Y.). Prov. Sintiku: Simpo (W. Y.).

On *Citrus maxima*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.). Prov. Tainan: Mato (W. Y.). Prov. Taityu: Nanto (W. Y.).

On *Citrus paradisi*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).

On *Citrus poonensis*. Prov. Taityu: Innrin (W. Y.).

On *Citrus Tankan*. Prov. Taihoku: Mokusaku (W. Y.); Sirin (W. Y.); Seisiryo (W. Y.).

On *Coffea arabica*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Coffea liberica*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Cyclobalanopsis glauca*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Dendrocalamus latiflorus*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.); Mokusaku (W. Y.).

On *Euphoria Longana*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.).

On *Ficus bengalensis*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Gardenia angusta* var. *ovalifolia* (Curt.) Hort. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Glochidion dasyphyllum*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Holarrhena antidysenterica*. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Leleba dolichoclada*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.).

On *Leleba Oldhami*. Prov. Taihoku: Mokusaku (W. Y.).

On *Murraya paniculata*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.)

On *Photinia taiwanensis*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Phyllostachys Makinoi*. Prov. Taihoku: Sinten (W. Y.).

On *Psidium Guajava*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.); Mokusaku (W. Y.). Prov. Taityu (W. Y.).

On *Quercus serrata*. Prov. Taikoku: Taihoku (W. Y.).

On *Sapindus Mukurossi*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Thea sinensis*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

4. **Hypocapnodium setosum** (Zimm.) Speg.

Physis II, p. 287, 1918; Sacc. Syll. Fung. XXIV, p. 376, 1926; Boedijn, Bull. Jard. Bot. Buitenzorg, Ser. III, XI, p. 227, 1931.

Antennaria setosa Zimm. Centralb. Bakt. Paras. Infekt. Abt. 2, VIII, p. 151, 1902; Sacc. Syll. Fung. XVII, p. 557, 1905; Sydow & Petrak, Ann. Myc. XXIX, p. 188, 1931.

Aithaloderma setosa (Zimm.) Boedijn, Bull. Jard. Bot, Buitenzorg, Ser. III. XI, p. 227, 1931; Sydow & Petrak, Ann. Myc. XXIX, p. 188, 1931.

Aithaloderma longisetum Sydow, Ann. Myc. XII, p. 545, 1914, XV, p. 477, 1917, & XXI, p. 97, 1923; Sacc. Syll. Fung. XXIV, p. 377, 1926; Sydow & Petrak, Ann. Myc. XXIX, p. 188, 1931.

Zukalia Theae Sawada, Spec. Bull. Agr. Exp. Stat. Formosa, XI, p. 122, 1915; Descr. Cat. Form. Fung. I, p. 195, 1919; Tanaka, Myc. IX, p. 170, 1917; Petch, Dis. Tea Bush. p. 42 & 206, 1923; Sacc. Syll. Fung. XXIV, p. 382, 1926.

Chaetothyrium Theae (Sawada) Hara, Dis. Tea Plant, p. 109, 1931.

Capnodium Guajavae Bernard, Bull. Dept. Agr. Ind. Neerland. XI, p. 21, 1907; Sacc. Syll. Fung. XXII, p. 63, 1913.

Limacinia Guajavae (Bern.) Sacc. Syll. Fung. XXII, p. 63, 1913; Sydow & Petrak. Ann. Myc. XXIX, p. 188, 1931.

Hab. On *Achras Sapota Formosa*: Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).

On *Citrus maxima*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.). Prov. Tainan: Mato (W. Y.).
On *Citrus paradisi*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Citrus sinensis*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Citrus Tankan*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Chrysophyllum Cainito*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Elaeocarpus serratus*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Mimusops indica*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Psidium Guajava*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).

5. **Aithaloderma clavatispora** SYDOW

Ann. Myc. XI, p. 257, 1913; Philip. Jour. Sci. C. Bot. VIII, p. 1913; THEISSEN & SYDOW, Ann. Myc. XV, p. 477, 1917; SYDOW, ibid. XXI, p. 97, 1923; SYDOW & PETRAK, ibid. XXIX, p. 188, 1931; YATES, Phillip. Jour. Sci. XII, p. 373, 1917; MENDOZA, ibid. XLIX, p. 192, 1932; SACC. Syll. Fung. XXIV, p. 377, 1926.

Hab. On *Bischoffia javanica*. Formosa: Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).
On *Achras Sapota*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Bladhia Sieboldii*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).
On *Camellia Sasanqua*. Prov. Taihoku: Maruyama (W. Y.).
On *Citrus maxima*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.).
On *Citrus Tankan*. Prov. Taihoku: Seisiryo (W. Y.).
On *Diospyros Kaki*. Prov. Taihoku: Sozan (W. Y.).
On *Elaeocarpus serratus*. Prov. Taihoku: Sirin (W. Y.)
On *Eugenia malaccensis*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).
On *Osmanthus asiaticus*. Prov. Taihoku: Maruyama (W. Y.).
On *Ficus retusa*. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.); Maruyama (W. Y.). Prov. Sintiku: Sansa (W. Y.).
On *Psidium Guajava* L. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.).
On *Psychotria Revesii* WALL. Prov. Taihoku: Taihoku (W. Y.)

6. **Phaeosaccardinula longispora** YAMAMOTO sp. nov.

Coloniis epiphyllis, effusis, tenuissime crustaceis, glabris, fuscis; mycelio dense intertexto, ex hyphis dense irregulariterque ramosis, plus minusve dematioideis, anastomosantibus, vix mucilaginis, e subhyalino cinereo-brunneis, 2.5–3.5 μ crassis, cellulis subcylindraceis et 9–16 μ longis composito; peritheciis sparsis, depresse globosis, indistincte ostiolatis, plus minusve verruculosis, non setosis, atris, 196–252 μ diam.; parietis 34–46 μ crassis, pseudoparenchymaticis, ex cellulis superficialibus plus minusve mamilatis, 14–18 μ longis, 7–11 μ crassis compositis.; ascis clavatis vel ovoideo-clavatis, apice rotundatis et incrassatis, brevissime pedicellatis, octosporis, aparaphysatis, 83–101 × 23–30 μ; sporidiis parallele stipatis, clavato-cylindraceis, apice late rotundatis, ad basim leniter attenuatis et obtusis, saepe leniter curvatis, transverse 7–15-septatis, longitudinaliter vel oblique 1–3-septatis, ad transverse septa leviter constrictis hyalinis, 44–76 × 8–12 μ.

Hab. On *Citrus maxima* *Formosa*: Prov. Sintiku: Sansyuko (III–19, 1942, W. YAMAMOTO, *type*).

7. **Limacinia formosensis** YAMAMOTO sp. nov.

Coloniis epiphyllis, effusis, tenuissime crustaceis, glabris, cinereo-brunneis; mycelio dense intertexto, ex hyphis dense irregulariterque ramosis, plus minusve dematioideis, anastomosantibus, mucilaginis e subhyalino dilute brunneis, 3.5–7 μ crassis, cellulis, oblongis vel subcylindraceis et 7–19 μ longis composito; peritheciis sparsis, hemisphaeroideis, apice depressis et indistincte ostiolatis, glabris, membranaceis, fuscis, 182–280 μ diam; ascis obovoideis vel clavatis, apice rotundatis et incrassatis, breviter pedicellatis, octosporis, aparaphysatis, 76–92 × 23–30 μ; sporidiis elliptico-cylindraceis, utrinque attenuatis, ad septa leniter vel fortiter constrictis, hyalinis, 35–58 × 7–9 μ, ex cellulis terminatis versiculosis, ampulliformibus, apice apiculatis praeditis.

Hab. On *Citrus maxima*. *Formosa*: Prov. Taihoku: Sinten (II-21, 1942, W. YAMAMOTO, *type*).

8. **Limacinia clavatispora** YAMAMOTO sp. nov.

Coloniis epiphyllis, effusis, tenuissime crustaceis, glabris, atris; mycelio dense intertexto, ex hyphis dense irregulariterque ramosis, plus minusve dematioideis, anastomasantibus, plus minusve mucilaginis, dilute brunneis vel fuscis, 3.5–6 μ crassis, cellulis oblongis vel subcylindraceis et 9–21 μ longis composito; peritheciis subgregariis vel sparsis, depresse globosis vel hemisphaeroideis, indistincte ostiolatis, subcoriaceis, glabris, e atro fuscis, 210–294 μ diam., 112–140 μ altis; superiore peritheciis cum subiculo circumdantibus et anastomosantibus; ascis clavatis, apice late rotundatis et incrassatis, breviter pedicellatis, octosporis, aparaphysatis, 55–69 × 18.5–25 μ; sporidiis clavatis vel elongato-obovoideis, utrinque rotundatis, 3–6 (plerumque 4–5)-septatis, ad septa non vel leviter constrictis, 21–34 × 7–9 μ.

Hab. On *Citrus Tankan*. *Formosa*: Prov. Taihoku: Seisiryo (III-15, 1942, W. YAMAMOTO, type).

9. **Limacinia filiformis** YAMAMOTO sp. nov.

Coloniis epiphyllis, effusis, tenuissime crustaceis, glabris, cinereo-fuscis; mycelio dense intertexto, ex hyphis dense irregulariterque ramosis, plus minusve dematioideis, anastomosantibus, e subhyalino olivaceo-brunneis, plus minusve mucilaginis, 3–7 μ crassis, cellulis oblongis vel subcylindraceis et 14–23 μ longis composito; peritheciis subgregariis vel sparsis, depresse globosis, indistincte ostiolatis, glabris, subcoriaceis, fuscis, 187–272 μ diam., 115–168 μ altis; ascis clavatis vel elongato-ellipsoideis, apice rotundatis et leniter incrassatis, brevissime pedicellatis, octosporis, aparaphysatis, 58–85 × 18–23 μ; sporidiis parallele stipatis, filiformibus, utrinque non vel vix attenuatis, rectis vel leniter curvatis, 5–13-septatis, ad septa non constrictis, hyalinis, 46–76 × 4–6 μ.

Hab. On *Citrus maxima*. *Formosa*: Prov. Taihoku: Sirin (IX-11, 1938, W. YAMAMOTO, *type*.).

(Received Dec. 13, 1955)

文 献 紹 介

土壌殺菌剤としての allyl alcohol

Overman, A. J. & D. S. Burgis: Phytopath., 46 (10): 532〜535. (1956).

allyl alcohol はもともと殺草剤として認められてきたものであるが，近時土壌殺菌剤として注目されはじめている。筆者は土壌殺菌剤としての効力を試みるため，pH 4.5〜5.3 の Leon fine sand よりなるまき付床に本剤を灌注した。7 日後にトマトを播種し，床土内微生物相の推移，トマト苗の出現状態などを調べた。処理区の子苗の出現数，品質は共に良好であった。線虫の被害も処理区に少なく，とくに ethylen dibromide など線虫駆除剤との併用は好結果をえた。硝化バクテリヤは処理後 3 週間阻害を受けたが，Actinomycetes はほとんど影響を受けなかつた。土壌棲息性糸状菌に対する影響は pepton agar上で稀釈法により検べたが,*Fusarium* spp. は allyl alcohol 単用または ethylen bromide との併用により減少した。しかし *Trichoderma* は処理 7 日後から増加しはじめ，acre 当り 25 gal. の処理区では苗の据おかれている少くとも 8 週間は高い棲息密度を維持した。また実験の終期から 6 カ月後にしらべてみると相変らず *Trichoderma* 密度は高い水準にあつたが，その他の土壌菌密度は普通以下であつた。一般土壌菌は methyl bromide 処理により一時急に減少するが，苗の植付をする時期には恢復してしまつた。これらの事実から，allyl alcohol 処理により，土壌中の状態が *Trichoderma* の発育に好適となり，その結果立枯病菌をふくむ土壌菌が拮抗を受けること，同時に allyl alcohol の毒性が *Trichoderma* に対するよりはるかに大きい力で一般土壌菌に働くという選択的な作用の生起などが想像された。 (高井省三)

Pythium ultimum の胞子形成促進物質について

木村一雄*・八木和男*・香月裕彦*・高橋　実**

Kazuo KIMURA, Kazuo YAGI, Hirohiko KATSUKI and Minoru TAKAHASHI:

On the sporulating substance of *Pythium ultimum*.

1. 緒　言

著者らのうち高橋,香月は,さきに *P.ultimum* の胞子形成がトウモロコシ煎汁培地では極めて盛んであるにも拘らず，Czapek 氏液のような合成培地を用いると全く行われないことを発見し，トウモロコシ煎汁中には本菌の胞子形成に必要な因子が存在し，これは既知のビタミン，アミノ酸等の作用物質とは異ることを報告した[1]。その後,著者らは,この実験を追試し培地の糖及び塩類の濃度が高い場合は胞子形成が阻害されることを知つたので，これを考慮してその後の実験にに稀釈 Czapek 氏寒天培地を基礎培地に用いることにした。この基礎培地にトウモロコシ煎汁を添加したものは明かに胞子形成を促進するが，トウモロコシ煎汁は必ずしも不可欠ではなく単に基礎培地のみでも少数の胞子形成を認めることができた。著者らはこのような培養条件の差による胞子形成の多寡はトウモロコシ煎汁中に含まれる特定の物質の促進作用に起因すると推定してこの物質を精製単離する目的で研究を行つた。

植物の繁殖器官の生成が特定の化学物質によつて起され調節されるとする考えは既に古くからあるが[2]，その作用と物質が共に確定した例は甚だ少い。例えば *Melanospora destruens* の被子器の生成[3]，*Achlya ambisexualis* の蔵卵器の生成[4]，*Phycomyces blakesleeanus* の接合胞子の生成[5] はそれぞれ Thiamine と Biotin，i-Inositol，Hypoxanthine によつて促進され，*Chlamydomonas eugametos* の鞭毛の生成は Crocin によつて起される[6]ことが知られている。

2. 方　法

トウモロコシ煎汁…新しく収穫したトウモロコシ粒を着色デシケーター中に保存し，更に必要に応じて製粉して着色デシケーター中に保存する。この粉末を室温で 20 時間アセトンで連続抽出しアセトン可溶部を除いた後，残渣の 200g に蒸溜水 2 l を加え 100°C で 1 時間加熱し，冷却後遠心分離して約 1 l の粗トウモロコシ煎汁を得る。

これを炭酸ガス気流中で褐色蒸溜フラスコを用いて減圧濃縮して約 100ml となし，94 %アルコール 900 ml を加えてできる白色沈澱を沪別し炭酸ガス気流中で沪液からアルコールを減圧蒸溜して除くと pH 5.5～6.0 の濃縮トウモロコシ煎汁が得られる。これを 100ml に定容にする。

保存培養…菌株の保存には上述の粗トウモロコシ煎汁の 2 %寒天斜面培地を用い一月毎に植えつぎを行つた。

基礎培地…基礎培地には稀釈 Czapek 氏固形培地を用いた。その組成は次の通りである。

KNO_3 50 mg，KCl 10 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 10 mg，$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 mg，K_2HPO_4 10 mg，KH_2PO_4 10mg，蔗糖 2.0 g，蒸溜水 1 l，精製寒天 2 %

前培養…実験を行うに当つては 150 ml の三角フラスコに 10 ml 宛加えた固形基礎培地の中央に保存培養の菌を移植し 28°C で 2 日間培養を行うと菌糸が殆んど培地の全表面に拡がるので中心からフラスコ底面の半径の $^1/_2$ を半径とする同心円の円周にそつて約 5 mm³ の寒天のブロックを切りとり，これを本培養培地の中央に接種する。

本培養…本培養には 150 ml 三角フラスコを用いフラスコ 1 個当り 10 倍濃度の基礎培地液 1 ml と検液（以下に述べる種々の処理をしたトウモロコシ煎汁。濃縮トウモロコシ煎汁の場合は 10 倍に稀釈したもの）9 ml を混じて pH5.5～6.0 の培養液をつくり，これに 2 %となるように寒天をとかし 28°C で培養した。

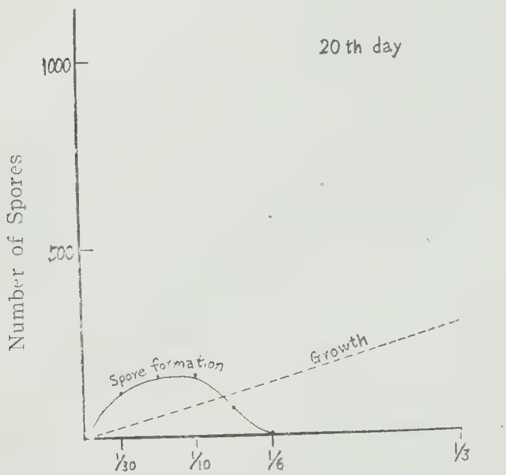
胞子の計数…培養終了後，フラスコ底面の半径の $^1/_2$ を半径とする同心円の円周にそつて約 5 mm³ の寒天ブロックを任意の 5 箇所から切りとり顕微鏡（500 倍）を用いて計数板内の胞子数を数える。少くとも 3 個のフラスコについて計数し 15 の平均をとり，その平均値を直径 1 mm 円内の胞子数に換算した値をもつて表わした。

3. 結　果

培地の糖及び塩類濃度の胞子形成に及ぼす影響…2 %寒天を含む Czapek 氏培地の糖濃度を順次減じたものに菌を培養して 20 日後に形成される胞子数を測定した。その結果は第 1 図のように生長量は培地の糖濃度に比例して増大するが，胞子数は糖濃度が原液の $^1/_{15}$ の

* 京都大学理学部

** 大阪府立大学農学部



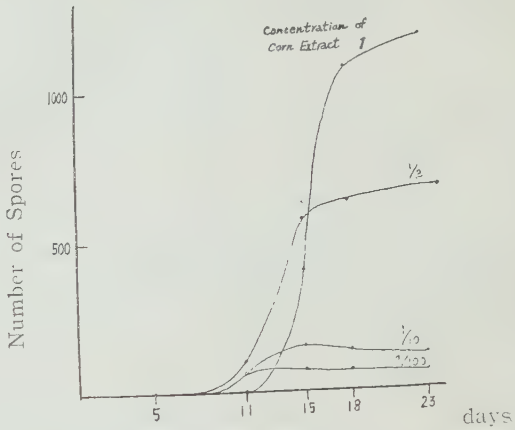
Concentration of Sugar of Czapek Solution
第1図 糖濃度と胞子形成

ところで極大値を示すことが判つた。また塩類濃度についても同様の実験を行うと，胞子形成に最適の濃度は Czapek 氏原液の1/60の濃度であることが判明した。従つて基礎培地としては Czapek 氏原液の糖濃度を1/15，塩類濃度を1/60としたものを用いることにした。

合成培地における胞子形成…第1図に示すように基礎固形培地でも少数の胞子が形成される。またこの培地に用いた寒天の代りに，塩酸及び水でよく洗滌したガラス粉末の層を基礎培地の液に浸し，よく洗滌し多くの細孔をあけたセロファン紙でガラス表面を被い液体培養を数回繰返し植えついだ菌をこのセロファン紙の上に接種培養することにより可及的に基礎培地液以外の栄養物質の影響を除いたものでも少数ではあるが胞子形成が確認された。従つて本菌は実験の可能な範囲で純粋な合成培地上においても胞子を形成するがその量は小さいものと考えられる。

培養日数と胞子形成との関係…基礎培地に添加する粗トウモロコシ煎汁の濃度を種々に変えて培養すると，第2図に示すように濃度の大小に拘らず 20 日目頃に胞子形成数は最大値に達する。従つて以後の実験では胞子数は培養 20 日後に測定した値を以て比較することにした。

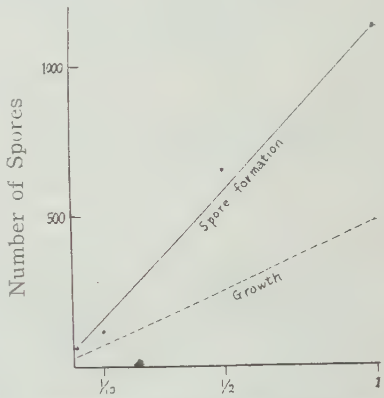
粗トウモロコシ煎汁濃度の胞子形成に及ぼす影響…粗トウモロコシ煎汁の添加量を異にする培地での培養 20 日目の胞子形成数を示すと第3図のようになる。即ちフラスコ1個当りについて換算するとトウモロコシ粉末 1.8 gに相当する煎汁の添加で 5×10^6 個の胞子が形成され，これが最大値であり，濃度がこれより



第2図 培養日数と胞子形成

薄いとその濃度に比例した生長及び胞子形成がおこることが明かになつた。

既知作用物質の効果…つぎに微生物の生長に必要な種々の水溶性ビタミンやアミノ酸を単独または混合して基礎培地に加えて培養し胞子形成促進効果を調べた。以下数量はフラスコ1個当りの添加量を示す。



Concentration of Corn Extract
第3図 トウモロコシ煎汁の濃度と胞子形成

p-Amino benzoic acid 0.4 γ, Pantothenic acid 4.0 γ, Nicotinic acid 50γ, Pyridoxine 50 γ, Riboflavine 50 γ, Folic acid 0.1 γ, Inositol 500 γ, Thiamine 50 γ, Biotin 0.05 γ, Peptone 20 mg, Cystine 0.4 mg, Arginine 0.4 mg, Histidine 0.4 mg, Phenylalanine 0.4 mg, Methionine 0.4 mg, Lysine 0.4 mg, Serine 0.4 mg, Tryptophane 0.4 mg, Uracil 50γ, Adenine 50γ, Guanine 50γ Xanthine 50 γ, Thymine 24 γ, Hypoxanthine 12 γ, Cytosine 12 γ, $FeSO_4\cdot 7H_2O$ 75 γ, $MnSO_4\cdot 5H_2O$ 22 γ, $CuSO_4\cdot 5H_2O$, 60 γ, $ZnCl_2$ 750 γ, Ammonium molybdate 6 γ, H_3BO_3 9 γ.

実験結果はいづれも対照と同程度の胞子形成を示し，促進効果は全く認められなかつた。またトウモロコシ粉末を灰化して試験したが促進効果は無かつたからト

ウモロコシ煎汁の無機成分は作用がなく胞子形成促進効果をもつ作用物質は有機化合物だと推定される。

胞子形成促進物質の自然界での分布…新鮮な動，植物の組織各 20 g に蒸溜水 200 ml を加え，100° C に1時間（肝臓のみは120° C に30分間）加熱し沪過して得た液9 ml を基礎培地に加えて同様の培養実験を行つた。結果を第1表に示すが，この胞子形成促進物質はトウモロコシについでニンジンに多く含まれ肝臓には少ない。注目すべき点は一年以上粉末の形で壜に貯蔵したトウモロコシや Corn Steep Liquor が殆んど不活性でありこの物質が不安定なことを暗示している。

第1表　胞子形成促進物質の分布

試　料	胞子数
トウモロコシ(本年度産)	760
トウモロコシ(昨年度産)	270
Corn Steep Liquor	70
ニンジン	600
米糠	180
ミカン皮	100
牛肝臓	70
無添加	70

胞子形成促進物質の溶解性…新鮮なトウモロコシ粉末を光を遮つたソクスレー装置でアルコール，ベンゼン，アセトン等の有機溶媒を用いて約 20 時間室温で抽出を行い，溶液からは溶媒を溜去した後，湯水で抽出し残渣は稀苛性ソーダに溶かし稀硫酸で中和して各々の部分について試験した。また不溶部からは溶媒を除いた後水と 100° C に1時間加熱して得た煎汁を試験した。その結果，アルコール可溶部の活性 57 %，同不溶部の活性 57 %，ベンゼン可溶部の活性 17 %，同不溶部の活性 97 %，アセトン可溶部の活性 10 % となりこの物質はアルコールに少し溶けるがアセトン及びベンゼンには殆んど溶けないことが判明した。

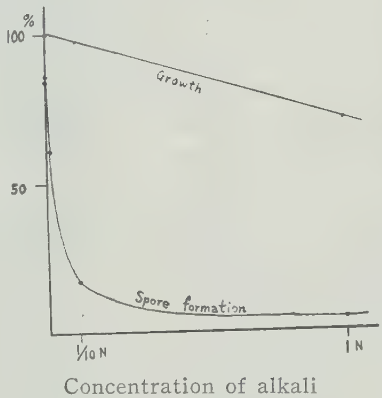
光線の胞子形成促進物質に対する影響…粗トウモロコシ煎汁を液の深さが約 5 mm になるように大型シャーレに入れ 30 cm 距てた上方から紫外線照射を 50 分行つた後，実験に用いた処，胞子形成に対する活性は 36 % に低下したが，菌の生長には殆んど影響が認められなかつた。

胞子形成促進物質の酸化による変化…粗トウモロコシ煎汁をその 2 %に相当する過酸化水素水と共に蒸発皿に入れ温浴上で蒸発乾涸し再び蒸溜水を加えて蒸発乾涸しこの操作を3回繰返した後，最後に蒸溜水に溶かして試験した。対照としては上の粗トウモロコシ煎汁の代りに蒸溜水を用い同量の過酸化水素水を加えて同様の操作を行い最後に蒸溜水の代りに粗トウモロコシ煎汁に溶かしたものを用いた。この実験で酸化をうけた煎汁の胞子形成に対する活性は 49 % に減じたが対照も 67 % に低下していた。

次に粗トウモロコシ煎汁に過マンガン酸カリウム水溶液を加えて $^{1}/_{60}$ N になるようにし，中性で2時間 28°C に保つた後，過剰の過マンガン酸カリウムを亜硫酸ソーダで分解し，生成した二酸化マンガンの沈澱を沪別して得た沪液，及び対照として蒸溜水を同様に処理し最後に蒸溜水の代りに粗トウモロコシ煎汁を加えたものについて試験した処，活性はそれぞれ 42 % 及び 73 % に低下した。

また濃縮トウモロコシ煎汁を調製するに当つて空気中で減圧濃縮すると活性は著るしく低下し最初の12% となるが，対照として炭酸ガスまたは窒素気流中で濃縮を行うと 70 % にとどめることができる。この実験により胞子形成促進物質は酸化により失活しやすいが，特に空気酸化に対し不安定なことが判明した。

胞子形成促進物質の酸及びアルカリに対する安定性…濃縮トウモロコシ煎汁 10 ml に塩酸またはアンモニヤ水を加えて各々 1 N とし封管中で 100°C に1時間加熱した後，炭酸ガス気流中で減圧乾涸を繰返し，塩酸またはアンモニヤを除いた後，中和して 100 ml に定容にして試験した。その結果，塩酸処理では 14 % の活性低下があつたのみであるが，アンモニヤ水処理では僅かに元の4 %の活性を残すのみで，この物質は酸には安定であるが，アルカリには非常に不安定であることが判つた。



第4図　種々の濃度のアルカリ処理をしたトウモロコシ煎汁の活性

なお $^{1}/_{10}$ N−，$^{1}/_{100}$ N−，$^{1}/_{1000}$ N−，$^{1}/_{1000}$ N− アンモニヤ水で同様の処理を行つた結果，第4図にみるように，それぞれ元の17 %，61 %，86 % 及び 84 % の活性を示したが，生長量は未処理のトウモロコシ煎汁の場合と大差がなかつた。

イオン交換樹脂による胞子形成促進物質の吸着…つぎにこの作用物質の構造の官能基を調べる目的でイオ

ン交換樹脂による吸着実験を行つた。濃縮トウモロコシ煎汁 5 m*l* を直径1 cm深さ 40 cm の円筒樹脂層中を徐々に通過させ，充分水洗した後，流下した液約 150 m*l* を中和し炭酸ガス気流中で減圧濃縮して 50 m*l* にしたものについて活性を調べた。その結果，アニオン交換樹脂 (Amberlite-1 R 4 B) を通じたものでは46%，カチオン交換樹脂 (Amberlite 1 RC-50) を以て処理したものでは 72 % の活性が認められた。アニオン交換樹脂を通した場合，液は塩基性になり多少失活することが考えられるから，この物質は両方の樹脂に吸着されなかつたもの，換言すると中性または両性物質と考えられる。

その他，活性炭，アルミナ，酸性白土による吸着実験も行つたがこの物質はこれらの吸着剤には吸着されなかつた。以上種々の処理に伴うトウモロコシ煎汁の活性の変化を総括すると第2表のようになる。

第2表 種々の処理をしたトウモロコシ煎汁の活性

	活 性 %
トウモロコシ煎汁(標準)	100
アルコール可溶部	57
〃 不溶部	57
ベンゼン可溶部	17
〃 不溶部	97
アセトン可溶部	10
50分間の紫外線照射	36
2 % の H_2O_2 による酸化	49
$^1/_{60}$ N-$KMnO_4$ による酸化	42
減圧濃縮(空気中)	12
〃 (CO_2 中)	70
N-HCl 1 時間煮沸	86
N-NH_4OH 〃	4
Amberlite 1 R 4 B非吸着部	46
Amberlite 1 RC 50 〃	72
合成培地	4～10

4. 考 察

カビやバクテリヤの胞子形成に関しては従来，温度，湿度，光等物理的要因の研究が多く，栄養条件としてはC/N比の影響が調べられたり，前述した若干の作用物質の促進効果が研究されてはいるが何れも胞子形成機構の本質に触れたものは少い。栄養生長から胞子形成へ進むためには物質代謝の面においても当然それに対応した変化が予想されるが，その変化の本質の解析は，或る要因の影響がつねに栄養生長(菌重の増加)にも，胞子形成にも随伴して及ぶ間はなかなか望めない。

上述した実験結果は酸化処理やアルカリ処理したトウモロコシ煎汁が胞子形成促進効果を著るしく減ずるにも拘らず栄養生長には殆んど影響の変化を示さないことを明かにしている。これはいいかえると栄養生長とは別に胞子形成のために特別な物質の関与することを強く示唆しているものと考えられる。

合成培地上の実験結果が示すように少量の胞子形成は合成培地上でも認められるが十分な胞子形成はトウモロコシやニンジンに含まれる因子が関与して起ると考えるとその形成機構が最もよく理解される。

5. 摘 要

1. *P. ultimum* の胞子形成はトウモロコシやニンジン中に含まれる特別な有機化合物により促進される。

2. この物質の促進作用は既知の水溶性のビタミン，アミノ酸，プリン・ピリミジン塩基，微量元素によつて置換されない。

3. この物質は非常に不安定で紫外線照射や酸化やアルカリ処理によつて失活する。

4. 以上の処理をしたトウモロコシ煎汁は処理をしないトウモロコシ煎汁に比べて菌の生長量に対する影響において変化なく，胞子形成促進作用において著るしく減少する。

終りにのぞみ終始御指導，御教示を賜つた京都大学理学部田中正三教授並びに同農学部赤井重恭教授に心から感謝する。(1956年2月27日受理)

引 用 文 献

1) 高橋実・香月裕彦: 日植病報, 15: 83. (1951).
2) Sachs, J: Arb. Bot. Int. Würzberg, 2 : 452～488, 689～718. (1880).
3) Hawker, L. E.: Ann. Bot. N.S., 3: 657～676. (1939).
4) Raper, J, R.: Mycologia, 32: 710～720. (1940).
5) Robbins, W. J. and Kavanagh, F.: Proc. Nat. Acad. Sci., 28: 65～69. (1942).
6) Moewus, F., Kuhn, R. und Gerchel, O.: Ber. Deut. Chem. Ges., 71: 1541～1547. (1938).

Rēsumē

1. It has been confirmed that the spore formation of *Pythium ultimum* is greatly promoted by some organic substance contained in corn or in carrot.

2. This substance can not be replaced by the known growth substances such as water-soluble vitamins, amino acids, bases of nucleic acids or minor-elements.

3. This substance is very unstable and can be easily inactivated by illumination or by oxidation or by alkali treatment.

(Faculty of Science, Kyoto University)

甘藷紫紋羽病感染組織における燐酸化合物の行動と呼吸との関係

鈴木直治・富沢長次郎・豊田　栄*

1. 緒　論

抵抗機作に関する研究について，鈴木[1,2]は最近の動向を論じ，"植物の細胞または組織が病原菌の侵害に対して抵抗するためには多量のエネルギーが必要であり，このエネルギーはATPの形で供給され抵抗するために必要な物質の合成や仕事に有効に使われなくてはならない。同一量の基質の酸化によつて生成されるATPの量から見ると酸化的燐酸化の場合が最も能率的であつて発酵では著しく能率が低いから，抵抗するために必要なATPの生産は呼吸の増加とそれに伴う酸化的燐酸化反応の活性の高まりによつて供給されるであろう。この行程のどこかが阻害されるか，或は発酵に向つた場合は抵抗が弱まつてしまう"と主張し，このように呼吸が増し，それによつて能率的にATPが生産され，出来たATPが有効に物質の合成や吸収に利用されている状態を"代謝活性の高い状態"と呼んだ。

このような代謝活性の高い状態を実験的に証明する方法として幾つかの術式を提案した。これらは材料によつては完全に行い得ない場合もあるができるだけの努力が払われなくてはならない。

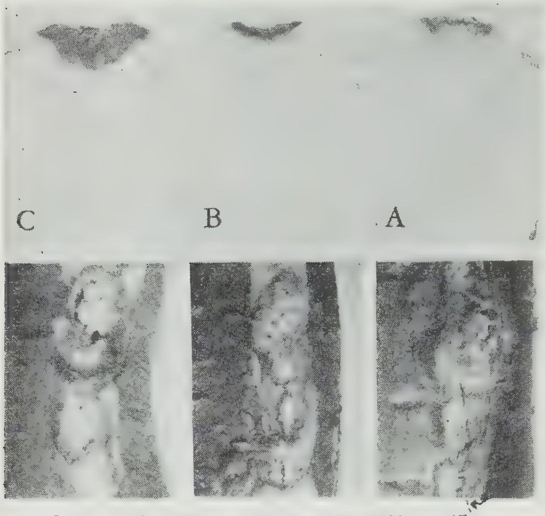


第1図　甘藷農林 10 号の肥大成長中に掘取り紫紋羽病菌の培養を剝皮接種した場合の感染，修復状況（農林10号，8月31日接種）
Sloughing-off infected tissue by cork-layer formation.
I　接種源　Inoculum placed on the peeled surface of sweet potato.
B　褐変死組織　Brown-discolored starchy parenchyma.
C　二次コルク層　Secondary cork-layer originating from starchy parenchyma.
S　澱粉の消失した澱粉組織　Starchy parenchyma from which starch grains has disappeared.

1. 呼吸率が増加しRQが1に近い。
2. 脱水素酵素の活性が高い（トリフェニルテトラゾリウムクロライド（TTC）の還元力等）。
3. パスツール効果の存在：$Q^{O_2}_{CO_2}/Q^{N_2}_{CO_2}$ が3以下である；2, 4-ジニトロフェノールによる呼吸率の増加；病斑周囲に澱粉の集積。
4. 酸化的燐酸化反応の活性の高いこと：(a) ミトコンドリヤを用いTCA環内有機酸を基質としその酸化に伴う有機燐酸エステル生成を測定しP/O比を算出する，(b) 感染組織内へのP^{32}の集積，(c) 組織内の有機，無機態Pの比率，(d) 燐酸エステルのペーパークロマトによる検出（P^{32}を用いる）。
5. 核蛋白の増加。

以上の中 4a，と5の項を除く各項につき甘藷紫紋羽病感染組織を材料として検討してみた結果を報告する。TTCを用いた脱水素酵素活性の高まりは別に報告した[3]のでここでは略する。

* 農林省農業技術研究所病理昆虫部



第2図 甘藷を剝皮し紫紋羽病菌を接種した場合の感染型
A：褐変乾腐（農林1号），B：褐変湿腐（農林10号），B：淡褐変湿腐（農林4号）
Different infection types. A : resistant, B : susceptible, and C : most susceptible

2. 材料と方法

供試品種：農林1号（比較的抵抗性），農林10号（感受性），農林4号（最感受性）のイモを用いた。何れ品種も8月—9月上旬の肥大生長中は抵抗力が強いが成熟すると（10月上中旬）抵抗力が弱まる。大きなイモ（200g 以上）は小さなイモ（100g 程度）に比べて常に抵抗力が強い。

接種法：イモの表皮を出来るだけ薄く，2×8 cm の面積だけ剝皮し，これに蔗糖加用馬鈴薯煎汁液で，25°C 15〜20日培養した菌叢，試験管3本分をのせ，培養液を沪紙に浸して被い，全体を紙で包んで湿つた河砂中に埋没し，25°C に保つた。2日後に明らかな病徴を示し，5日目には感染の程度にしたがつて2〜5 mm またはそれ以上の深さまで褐変を認める。無色の菌糸が壊死細胞の間隙を走つている（第1図）。第1図は肥大生長中のイモ（農林10号）に接種した場合で速かなコルク層の形成と修復が見られる。

感染型による抵抗性の判別：この場合は剝皮接種のため自然感染の場合のような表皮による抵抗は見られない。肉眼的に感染の型を類別すると第2図のようになる。第2図に見られる色々な型を

A：褐変乾腐型（修復速かである）

B：褐変湿腐型（褐変徐々に拡張）

C：淡褐変湿腐型（褐変速に拡張）

と呼ぶことにした。実験の都度感染の型を記録し，分析結果と対比して考察することとした。

第1表 抵抗性を異にする感染組織の呼吸率と解糖率

品種と感染型		Q_{O_2}	$Q^{O_2}_{CO_2}$	$Q^{N_2}_{CO_2}$ *	RQ	$Q^{O_2}_{CO_2}/Q^{N_2}_{CO_2}$
農林10号，新イモ（乾腐修復）	健全組織 **	0.9	0.68	0.68	0.76	1.0
	病変 〃 ***	1.5	1.10	0.90	0.73	1.2
農林4号，借イモ（褐変乾腐）	健全組織 **	1.00 0.63	0.45	0,44	0.72	1.0
	病変 〃 ***	1.20	1.06	0.54	0.88	1.7
農林10号，貯蔵イモ（淡褐変湿腐）	健全組織 **	0.56	0.35	0.35	0.67	1.0
	病変 〃 ***	5.50	4.00	1.46	0.78	2.7

註 8月30日掘取り，直ちに接種し10日目に測定。200 μ の切片8枚をワールブルフ検圧計フラスコに入れて測定した。* N_2 ガス中の CO_2 生成率，**，*** 何れも同一イモの健全部（接種部の反対側）と接種部の褐変部を除いた下の部分。

3. 結果

a. 感染組織の呼吸率の増加と $Q^{O_2}_{CO_2}/Q^{N_2}_{CO_2}$ 比

第1表により明らかなように i) 呼吸は病組織で常に増加しているが強抵抗の場合は1.6倍であるのに対し弱抵抗の場合は10倍にも達している。ii) RQ は何れも 0.7–0.8 である。iii) $Q^{O_2}_{CO_2}/Q^{N_2}_{CO_2}$ 比は抵抗の強→弱の順に1.2→1.7→2.7と増加しており，健全組織では何れも1.0である。

焦性ブドウ酸1分子より生産される CO_2 は発酵では1分子，呼吸では3分子である。今 $Q^{N_2}_{CO_2}$ に比べて $Q^{O_2}_{CO_2}$ が3倍であれば呼吸によつて焦性ブドウ酸の消費が，発酵に比べて，全く節約されない；それが1倍

に近ければ呼吸により焦性ブドウ酸の消費が節約されていることを示している[4]。発酵が呼吸に転換することによりエネルギー代謝が能率化され，糖の消費が節約されることはパスツール効果としてよく知られており，この考え方を第1表にあてはめると抵抗している組織ではパスツール効果が保持されており，逆に抵抗の弱まつた組織ではパスツール効果が失われているといえる。

b.　燐化合物の病組織への集積

aの実験と平行して接種した材料についてLePage[5]の方法により燐化合物の分割定量を行つた。

第2表で見ると感染組織では無接種部組織に比べて常に全Pが20 %近く増加している。抵抗性の強弱間で特に著しい違いを拾つてみると i) 抵抗している場合は△7 P，Ba-可溶，アルコール－不溶Pの増加，ii) 抵抗の弱つた場合は同上の減少，となる。iii) 無機P，Ba-不溶Pは何れも増している。

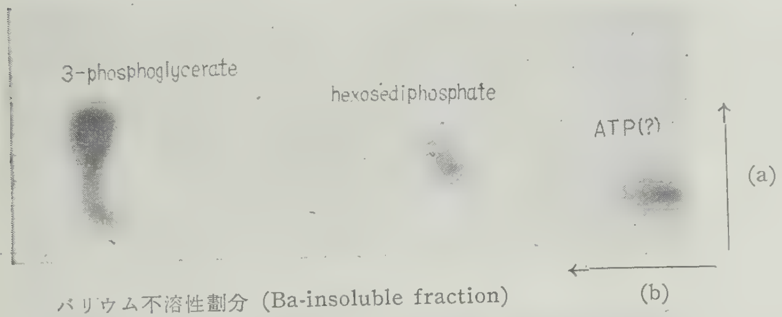
第2表　抵抗性を異にする感染組織における燐化合物の増加と分割定量結果　（接種後12日目）

品　種（感　染　型）		全P	TCA-不溶P	TCA-可溶P	遊　離 P	△7 P	B_a-不溶 P	B_a-溶，アルコール－不　溶　P
農林 10 号，新イモ（褐　変　修　復）	健　全　組　織	0.48	0.09	0.38	0.34	0.01	0.32	00046
	病　変　〃	0.56	0.07	0.49	0.42	0.03	0.41	0.052
農林1号，新イモ（褐　変　乾　腐）	健　全　組　織	0.41	0.04	0.38	0.32	0.02	0.31	0.052
	病　変　〃	0.49	0.04	0.45	0.40	0.02	0.38	0.046
農林10号，貯蔵イモ（褐変湿腐，拡大）	健　全　組　織	0.47	0.05	0.42	0.35	0.04	0.31	0.102
	病　変　〃	0.56	0.10	0.46	0.42	0.01	0.41	0.025

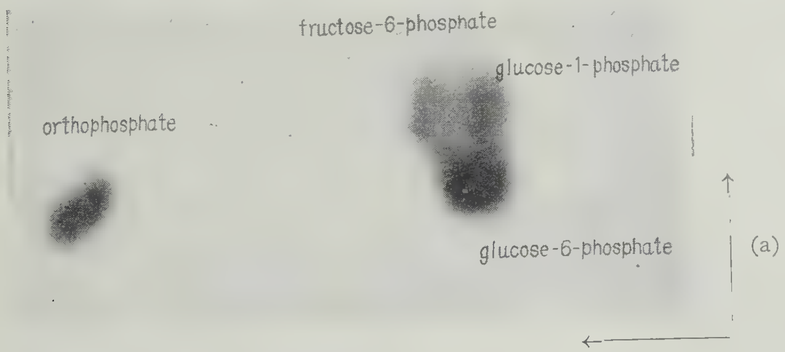
註：表中の数字は組織の，生重1g当りTのmg数を示す。

c.　病変組織内のトリクロール酢酸可溶燐酸化合物のペーパークロマトグラフによる検出

強抵抗組織で増加している△7 PとBa-可溶，アルコール‐不溶Pの中に含まれるP‐化合物を知るために剝皮接種したイモの上部を横断し，導管部に沿つて溝を掘り，P^{32}—燐酸緩衝液（80μc／2ml）1mlを注入し，2日後に感染組織の褐変部を除いた層5gをとり，LePage[5]法でBa-不溶性割分，及びBa-可溶アルコール‐不溶性割分をとり，アンバーライトIR 120でカチオンを除きP化



バリウム不溶性割分 (Ba-insoluble fraction)



バリウム可溶，アルコール不溶性割分 (Ba-soluble, alcohol-insoluble fraction)

第3図　ペーパークロマトグラフィーにより分離した感染組織内燐酸化合物のオートラジオグラムの一例。

Autoradiograms of the paperchromatograms of phosphorylated intermediates extracted from a Helicobasidium-infected sweet potato tissue.
(a) alkai,　(b) acid solvent

合物を蒸溜水に溶解させた後その適当量を沪紙の原点に 1000−5000 c. p. m. つけ，(a) イソプロパノール：イソブタノール：NH_4OH：水〔40：20：1：39〕，(b) イソプロパノール：Cl_3CCOOH：水〔75：5 g：0.3：25〕で2次元展開した[6]後，沪紙をX線フィルムと重ねて10日放置し，そのオートラジオグラムを作り，沪紙の斑点に相当する部分を切りとりその放射能を測定して各化合物間の比率を求めた。検出された化合物は第4図に，各化合物間の比率を第3表に示した。

第3表においても b. に述べたと同様に Ba-可溶，アルコール-不溶Pが増加しており，その中にはブドウ糖-1-燐酸，ブドウ糖-6-燐酸が含まれており，特に後者の増加が顕著であることが示されている。なお，この分析結果は接種後第2日目であつて第2表の成績は接種後12日目であるから今回の結果の方が感染初期の行動を示しているものといえる。

d. 感染組織への P^{32}-燐酸の集積

剝皮接種し，25° C に4日保つたイモの下部を横断し，P^{32} の 80μc を 200 ml の $^{M}/_{100}$ 燐酸緩衝液に加えた液中に立てて 24 時間おき，感染部をコルクボーラーで抜きとり，表面から 400μ 切片5枚づつ（計厚さ 2 mm）を試料皿にのせ，G. M カウンターで測定し，P^{32} の $^{M}/_{100}$ 燐酸緩衝液として加えたPの量（イモに元から存在したPは含まない）として算出した結果を第4表に示した。

第4表によると，抵抗している組織では褐変部に接する未褐変部に集積量が多い；抵抗の弱い組織では褐変部から未褐変部へ漸減している；軟腐した場合にはほとんど集積が起きない。

e. 感染組織における P^{32}-燐酸の分布

剝皮接種したイモの上部を横断し導管部に沿つて溝を掘り，$^{M}/_{10}$ の P^{32}-含有燐酸緩衝液（80μc／5 ml）の 1 ml を注入し，25° C に保ち1日，2日，4日，8日後に感染組織の褐変部を除いた直下の層 2 g をとり，5％トリクロール酢酸で抽出し，Fiske 試薬[7]で沈澱させて無機Pを分け，全P，TCA 可溶全P，無機P，のそれぞれの放射能を測定し，感染の進行に従つて各分割間の比率の変化する状況を調べた。結果は第4図に示した。

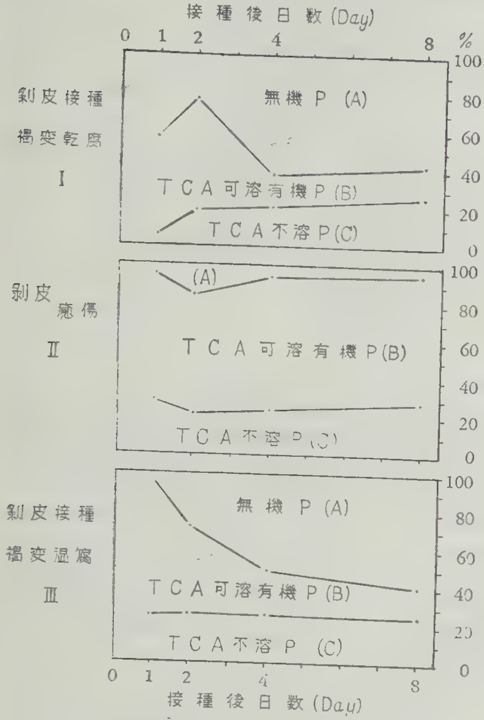
第4図では何れの場合も感染組織では有機Pの無機化が起きている。剝皮後癒傷する行程では無機化は初めに軽く起り，これと平行して蛋白Pが僅に減少するが次いで増加して定常状態に達する。抵抗している感染組織では蛋白Pが減少し，次いで漸増して行く傾向

第3表 ペーパークロマトグラム上で分離した各燐酸化合物間の比率（接種後2日目）

	農林1号				農林4号			
	病部		健部		病部		健部	
	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%
Ortho-phosphate	2,284	40	691	65	2,205	49	2,669	62
Glucose-1-phosphate	787	14	16	2	621	14	792	18
Glucose-6-phosphate	1,474	26	210	20	870	19	323	8
Fructose-6-phosphate	498	9	83	8	419	9	190	4
Hexose-1, 6-diphosphate	126	2	5	0.5	32	0.7	33	0.8
3-phosphoglyceric acid	156	3	5	0.4	87	2	65	2
ATP	432	8	50	0.5	298	7	210	5
合計	5,757	100	1,059	100	4,532	100	4,282	100

第4表 抵抗性を異にする感染組織への P^{32} の集積（接種後5日目），24時間内に集積したPの γ 数

品種，感染型（褐変の深さ）	褐変部		未褐変部		
	4 mmまで	2 mmまで→	←2 mmまで	4 mmまで	6 mmまで
農林10号，乾腐（1 mm）	-	1.3	6.2	2.3	1.3
〃 ，湿腐（5 mm）	1.4	0.9	1.5	0.9	—
〃 ，〃（7 mm）	1.1	0.8	0.6	0.6	—
〃 ，〃（8 mm）	0.0	0.0	0.4	1.0	—
〃 ，〃（9 mm）	2.0	1.6	0,6	0.6	—
〃 ，軟腐 —	0.0	0.0	0.0	0.0	—



第4図　抵抗性を異にする感染組織内における P^{32}－燐酸化合物の行動

Behaviours of P^{32}–phosphorus fractions in the Helicobasidium-infected tissues of sweet potatoes of different infection types.

I : resistant, II : peeled, but not inoculated, III : susceptible.

A : inorganic P ; B : trichloroacetic acid -soluble organic P, and C ; TCA-insoluble P.

は癒傷の場合と似ている。弱抵抗の組織では蛋白Pの減少は少く，無機化は後まで続いている。

要するに癒傷，強抵抗組織ともに蛋白Pはまず無機化する方向に向うが，次でPの有機化が回復し，蛋白Pが再合成される傾向が察知される。

4. 考察

感染組織にP^{32}，S^{35}が集積する例は多く知られており[8,9]，国内では吉井，徳重，野中[10,11]の報告がある外，吉井(未発表)は甘藷黒斑病組織において同様の例を提示された。著者らの実験においても甘藷紫紋羽病感染組織に P^{32} の集積する事実及び P^{32} を注入しない場合でも同一甘藷内で感染部に，その反対側の無接種部に比べて，全Pが 15～20 %増加している事実が認められた。この点だけでは抵抗の強，弱の間の差は認められない。問題は感染部に集積したPがエネルギー代謝に有効に利用されているかどうかにある。

上述の結果を総合すると，甘藷の紫紋羽病感染組織については，強抵抗の場合は呼吸率は 1.5～2.0 倍まで上昇し，その呼吸はパスツール効果を維持し，無機燐酸を能率的に有機化しており，逆に抵抗の弱い場合は呼吸率は 10 倍にも達するがその呼吸はパスツール効果を失い，燐酸を有機化する能率は極めて低く，全体としては燐化合物の無機化が優越する。

瓜谷ら[12]がいうようにイポメアマロンが uncoupler として働くとすれば弱抵抗の場合の異常に高められた呼吸にはその作用が関与し，呼吸の増加と同時にATP の生産阻害の原因となつているかも知れない。ここで感染組織内のイポメアマロンの消長が問題となるのであるがこの点については後日報告する予定である。

燐酸エステル中，Ba-可溶，アルコール不溶性劃分(ブドウ糖-6-燐酸，ブドウ糖-1-燐酸，果糖-6-燐酸を含む) が増加していることは興味深い。すなわち解糖行程において果糖-6-燐酸→果糖-1，6-2燐酸に関与する phosphohexokinase はヨード，キノン，デヒドロアスコルビン酸等の酸化剤により阻害され，その前段階のブドウ糖-6-燐酸から Warburg-Dickens 式に入りこむ可能性は既に Engelhardt と Sǎkov[13]，Dickens[14]により示唆されており，事実感染組織においてはポリフェノール，デヒドロアスコルビン酸の増加が認められている[18]。ここでW-D式による呼吸が増加しているとすればここからポリフェノール増加の可能性も考えられる。

初めにのべた呼吸と燐酸の行動と抵抗との関連については Humphrey およびDufrénoy[15]，Sempio[16]，Allen[4]，Gothoskar et al.[17] の研究と深い関連をもつているが詳細は鈴木の総説を参照して頂きたい。

(1956年5月16日受理)

引用文献

1) 鈴木直治：農業技術，10：500～505. (1955).
2) ――：植物防疫，9：463～467. (1955).
3) ――：栃内，福士両教授還暦記念論文集：227～235. (1954).
4) Allen, P. J. : Phytopath., 43 : 221～228. (1953).
5) LePage, G. A. : Manometric techniques and tissue metabolism. pp. 185～197. (1949).
6) 大村京生・福士定雄；日農化誌，27：516～521. (1953).
7) Fiske, C. H. and Subbarrow, Y. : J. Biol. Chem.,66 : 375. (1925).
8) Gottlieb. D. and Garner, J. M : Phytopath.,

36:557～564. (1946).

9) Yarwood, C. E., and Jacobson, L.: Nature, 165: 973～974. (1950).

10) 吉井甫・徳重陽山・野中福次：九大農学部学芸雑誌, 16: 139. (1955).

11) 吉井甫・徳重陽山・野中福次：日植病報, 20: 16～20. (1955).

12) 瓜谷郁三・赤沢堯・舟橋三郎：酵素化学シンポジウム, 10: 174～181. (1954).

12) Engelhardt, W. A. and Sakov, N. E.: Biochimia, 8: 9～34. (1943).

14) Dickens, F.: The Enzyme, 624～683. (1951). (p. 647, 679, 681 参照)

15) Humphrey, H.B. and Dufrenoy, J.: Phytopath. 34: 21～40. (1944).

16) Sempio, C.: Phytopath., 40: 1～23. (1950).

17) Gothoskar, S. S., Scheffer, R. R., Stahmann, M. A. and Walker, J. C.: Phytopath., 45: 303～307. (1955).

18) 鈴木直治・高梨友子：農研病理科中間報告, 9: 156～158. (1956).

Summary

Plant tissues, when infected by certain pathogenic fungi, seems to require an abundant supply of ATP in order to synthesize organic materials necessary in their defence reaction. Such an abundant supply of ATP may be accomplished by increased respiration of infected tissue, and the production of ATP is, as generally accepted, most efficient in case the oxidative phosphorylation takes place in the respiratory process. In fact, the respiration of the Helicobasidium-infected sweet potato tissues are stimulated up to two times, when the tissues are resistant, while up to 3 to 10 times, when the tissues are susceptible. Here arises a question as to whether the extraordinarily stimulated respiration of the susceptible tissue can be effective for ATP production. A series of experiments were made to obtain an answer to this question. The results are summarized below.

	Infected sweet potato tissues	
	resistant	susceptible
Rate of respiration	increases up to 1.5 to 2 times	increases up to 3 to 10 times
Rate of triphenyltetrazoliumchloride reduction	do. up to 1.5 times	do. up to 3 times
$Q^{O_2}_{CO_2} / Q^{N_2}_{CO_2}$	1.2	2.7
Total P	increases by 15 %	increases by 20 %
Ba-insoluble P	increases by 30 %	increases by 30 %
Ba-soluble, alcohol-insoluble. (Glucose-1-phosphate, Glucose-6-phosphate Fructose-6-phophate)	increases	increases at first, decreases later on
Color development of section in molybdic-ascorbic acid reagent	visible after 2 or 3 days	visible after 10 minutes
Ipomeamarone (an uncoupler)		
in brown-discolored tissue	+++	++
in periphery of the above	+	++

From these results, the writers conclude that, in the resistant tissues, the oxidative phosphorylation takes place in the stimulated respiratory process, while, in the susceptibe tissues, although the respirations are stimulated to an extraordinary extent, resultig in a rapid liberation of inorganic phosphate from phosphorylated intermediates.

(National Institute of Agricultural Sciences)

牡丹の枝枯病とその病原菌 *Pestalotia paeoniicola* sp. nov. について

塚本永治*・日野隆之**

Eiji TSUKAMOTO & Takayuki HINO: On the twig blight of the tree peony and its causal fungus *Pestalotia paeoniicola* sp. nov.

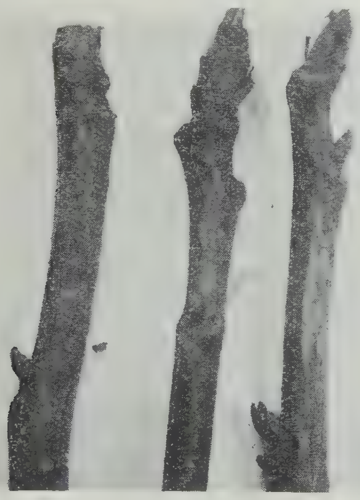
1. 緒言

牡丹は輸出花木として主要な位置を占めているが，最近日本及びフランスよりアメリカ合衆国向輸出の牡丹（*Paeonia suffruticosa*）の苗木に *Pestalotia* 属菌の1種がアメリカに於ける植物検疫の際発見されている。しかしながらこれに関して詳細な記録も，病原菌の同定もおこなわれていない。

本病菌は，著者の一人塚本が 1952 年3月秋田市楢山で発見し，その後病原菌の分離，培養，接種等について検討を重ねた結果，新種と確認したのでここに報告する。この報告をおこなうにあたり，研究上にいろいろ御援助をいただいた平塚博士に対し，また実験用に栽培牡丹を提供された秋田市楢山の湊貞輔氏に対し，衷心より感謝の意を表する。

2. 病徴

最初若枝の表面に淡褐色の微小点現われ，次第にその数を増し，秋末までに黒褐色の微小点が密布するにいたる。被害枝は概ね褐色となるが被害甚しい部分には，灰褐色の長い不正形の病斑を形成する。被害枝より生ずる新梢は発育不良で花蕾をつけるものが少なく，かつ病斑は新梢および母枝にひろがり，次第に枝が枯死するにいたる。罹病枝の表面に生ずる褐色の微小点は，本菌の胞子堆である。胞子堆の周囲は，浸潤状でぼかされている。この点牡丹の枝に寄生する *Phoma* sp. の柄子器や，*Monochaetia* sp., *Coryneum* sp. の胞子堆では周囲がはつきりしているので，本菌とは肉眼的にもよく区別できる。



第1図　牡丹枝枯病の病状

3. 病原菌

胞子堆は，罹病枝の病斑上に多数散生し，黒褐色できわめて小形，大さ 180〜400×80〜120 μ，形は球形又は亜球形で周皮下に埋生するが次第に頂部隆起する。子座を形成し，成熟すれば上縁部裂開し，胞子を散逸する。分生胞子は紡錘形，17〜33×6〜9 μ，基端に向つて細まり，4隔膜部，多少くびれ，中央の3胞は褐色，特に上方の2胞は濃い。頂端の細胞はほぼ三角状で無色，大さ 2〜5×2.5〜3.0 μ，その頂点から 3〜4 本の繊毛を生ずる。繊毛の数は普通3本，長さ 15〜27 μ，無色，基端の細胞は三角状で大さ 3〜6×2.8〜4.0 μ，無色または淡色，脚毛は無色，大さ 3.5〜7.0×1.0 μ。

4. 人工培地上の性質

供試の菌は，1953 年3月15日秋田市楢山で採集した被害枝から分離した。

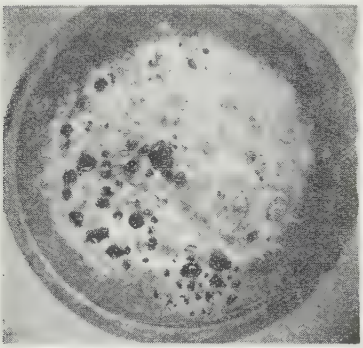
1) 各種培地と菌糸の発育および胞子の形成　本菌の菌糸の発育および胞子形成の状況並に温度との関係を観察するために各種の培地を用い培養をおこなつた。培地には，馬鈴薯汁寒天，菜豆汁寒天，玉葱正油寒天，乾葡萄汁寒天および蒸し玄米，リチャーズ氏液寒天等を用いた。

馬鈴薯汁寒天および玉葱正油寒天培地上では空中菌糸の発育は旺盛であり，菜豆汁寒天，乾葡萄汁寒天およびリチャーズ氏液寒天培地では稍劣る。蒸し玄米培地上では菌糸の発育頗る旺盛で白色綿状を呈する。各種寒天培地上の菌糸は白色であるが次第に淡黄褐色と

* 秋田大学学芸学部　** 門司植物防疫所

なり，その集落は密である。

ペトリー皿寒天培地では，周囲に向つて波紋状または環帯状の起伏をなして成長し，その周縁は波状を呈する。各種寒天培地の色は，最初淡黄褐色であるが次第に黒褐色となる。ただ乾葡萄汁寒天培地の場合は淡紅色を呈する。また三角フラスコ内の蒸し玄米培地では，最初かすかな白色綿状の菌糸が培地の内外部にごろまり次第に囲繞する。同時に多量の汁液を分泌し，そのために培地がかくれるが如くなるが6～7箇月後には全く汁液が消失するにいたる。



第2図　菜豆汁寒天培地上に純粋培養して形成の *Pestalotia paeoniicola* の胞子集落

胞子集落の形成は，寒天培地では最初菌糸集落の内部におこなわれ，黒色で光沢ある扁球形をなし，次第に表面に現われる。また，玄米培地では培地の内部および表面に不規則な黒色斑として現われ，あたかも煤のように見える。

2) 菌糸の発育と温度　ペトリ皿の加糖馬鈴薯汁寒天平面培地にあらかじめ培養しておいたコロニーから発育旺盛な部分を径 1.5 mm 大に切りとり，これを別に用意の3寸ペトリ皿の2％加糖馬鈴薯汁寒天平面培地の中央に移植し，各温度を調節した定温器に保ちペトリ皿の縁に菌叢がとどくまで毎日定時に測定した。同一温度の試験に供したペトリ皿の数は各5箇宛とし，2回繰返しおこなつた。

Table I. 馬鈴薯汁寒天平面培地上の各種温度に於ける *Pestalotia paeoniicola* の菌叢の平均
Average diameter of mycelial colony of *Pestalotia paeoniicola*, on potato agar media at various temperatures.

Days after inoculation on plates	Temperature (°C)								Remarks
	5	10	20	25	28	30	33	35	
1	cm 0	〃 0	〃 0.28	〃 1.5	〃 1.6	〃 1.5	〃 0	〃 0	O=No growth
2	0	0.16	1.3	3.3	3.5	3.6	0	0	
3	0	0.25	2.2	4.5	5.3	5.5	1.0	0	
4	0	0.45	3.5	7.2	7.2	7.3	3.2	0	
5	0	0.65	4.4	8.4	8.4	8.6	4.0	0	
6	0	0.80	5.3	8.3	9.3	9.3	4.5	0	

表1に示すが如く，菌糸発育の最適温度の範囲は，28°～30°C，最低範囲，7°～10°C，最高限界 33°C附近，35°C以上 5°C 以下では発育しない。

3) 胞子形成と温度　加糖馬鈴薯汁寒天平面培地により 8°～19°C の実験室内の自然状態で菌糸の発育，胞子の形成を測定した結果次の如くである。

Table 2. 実験室内の自然状態に於ける *Pestalotia paeoniicola* の菌糸発育と胞子形成
Mycelial growth and spore formation of *Pestalotia paeoniicola* under natural condition in laboratory.

Days after inoculation on agar	Date	Temp. (°C)	Diameter of mycelial colony (cm)	Spore formation
1	6/IV	10	0	Spore were formed 15 days after inoculation
2	7/IV	13	0.3	
3	8/IV	15	0.5	
4	9/IV	8	0.7	
5	10/IV	11	0.8	
6	11/IV	13	1.5	
7	12/IV	19	2.5	

表2に示す如く，自然状態の室内で 8°～19°C で菌糸発育し，分生胞子は接種後 15 日で形成する。以上の結果から見て東北地方に於ては己に4月上旬の新梢発生時に，本菌が活動するものと解される。

5) 本菌と他の *Pestalotia* 菌の菌糸発育並に胞子形成と温度との関係　a) *Pestalotia paeoniicola* Tsukamoto et Hino (本菌)

菌糸発育，最低，7°～8°C，最適，28°～30°C，最高，33°～34°C。胞子形成，最低，15°C，最適，28°～30°C，最高，33°C 附近。b) *P.diospri* Syd.　菌糸発育，最低 10°C，最適，28°C，最高，36°～40°C。c) *P. guepiri* Desm. 菌糸発育，最低，0°～4°C，胞子形成，最適，22°～28°C，最高，37.5°C。d) *P. theae* Sawada　菌糸発育，最低，2°C，最適，28°C，最高，36°～40°C。

以上4種の菌について見るに，菌糸発育の最適温度は，28°C 附近であるが，最低，最高の限界には大きい差異がある。即ち，菌糸発育の最低に於て，本菌は *P. diospyri* より 2°～3°C 低く，*P. theae* より 5°～6°C，*P. guepiri* より 4°～7°C 高い。また，最高限界に於ては，本菌は *P. diospyri* および *P. theae*

より 3.5°～4.5°C低い。胞子形成に於ても *P. guepiri* に比し，本菌は 3.5°～4.5°C低い。

6) 菌糸発育と pH 関係　2％加糖馬鈴薯汁寒天培地に，Hcl，NaOH を種々の割合に加え，比色法によつて pH 4.0～8.0 まで調製し，1区3箇のペトリ皿を用い，28°C のもとで6日間毎日測定した。その結果，最適の pH 価は 5.6～5.7 の範囲であることが認められた。

5. 接種試験

1954 年3月23日秋田市楢山で採集したものから分離培養したもので，1954 年6月13日および 20 日の2回にわたり実施した。まず新梢を 1000 倍の昇汞水で消毒し，殺菌蒸溜水で洗滌し，消毒した針による刺傷のものおよび無傷のもの各 10 箇所に寒天培地上に形成した菌糸並に胞子をつけ，上面に脱脂綿をかぶせ殺菌蒸溜水をふくませ，その上部をビニール紙でおおい糸で縛つた。同年9月 10 日検鏡の結果，第1回実施の有傷接種は 10 箇所中6箇所に，同第2回のものは，4箇所にそれぞれ胞子堆を形成した。無傷接種の箇所には発病を認むることできなかつた。

6. 分類学的考察

Pestalotia 属菌を大別すると *P. funerea* 群，*P. guepini* 群，*P. versicolor* 群，*P. hartigii* 群および *P. pezizoides* 群の5群に分けられ，本菌はこれらのうち *P. versicolor* 群に属する。*P. versicolor* 群中で本菌に近似しているものに *P. oxyanthi* Thühen.（寄主，*Oxyanthus pubescens*），*P. maculiformans* Guba & Zeller（寄主，*Vaccinium ovatum*）．*P. caffra* Sydow（寄主，*Himusops caffra*）*P. aquatica* E. & E.（寄主，*Peltandra virginica*），*P. menezesiana* Bres. & Torr.（寄主，*Vitis vinifera*），*P. gracilis* Klebahn（寄主，*Sassafras variifolia*），*P. paeoniae* Servazzi (O.)（ラテン記載ない）（寄主，*Paeonia arborea* および *P. photiniae*）等がある。これ等の菌と本菌との差異点を示せば次の如くである。1) *P. oxyanthi* は本菌に比し胞子堆小にして分生胞子は巾せまく，棍棒状，先端無色細胞長円筒形，繊毛数2～4本。2) *P. maculiformans* は中央3胞オリーブ色，先端無色細胞短円筒形，繊毛3本で短かい。3) *P. caffra* は胞子堆小，分生胞子は棍棒状で巾広く，繊毛常に3本。4) *P. aquatica* は，胞子堆小，分生胞子短小，中央3胞オリーブ色，先端無色細胞短円筒形，繊毛常に3本で短かい。5) *P. menezesiana* は，胞子堆小，分生胞子は小さく，かつ，長円錐形，先端無色細胞，短円筒形，繊毛常に3本。6) *P. gracilis* は胞子堆小，分生胞子また小にして先端無色細胞短円筒形，または太い円筒形。7) *P. paeoniae* は胞子堆小，分生胞子は長さ巾共に小さく，中央3胞オリーブ色，先端無色細胞短円筒形，繊毛は2～4本にして短かい，また胞子柄も短かい差異を示す。

その他日本からアメリカ合衆国へ輸出した牡丹苗およびフランスからアメリカ合衆国に輸出されたボタン属の植物で *Pestalotia* 属の菌がアメリカの植物検疫で発見された記録（1926—1935）（ボタン属については *Paeonia* sp. とのみ記録されている）があるが，しかし詳細な記述も種名の同定もおこなわれていない。よつて，本菌と合致する菌を見出すことができないので新種と認め，*Pestalotia paeoniicola* Tsukamoto et Hino と命名した。種の記載は次の通りである。



第3図　菜豆汁寒天培地上に生じた *Pestalotia paeoniicola* の分生胞子　×1200

Fig. 3　Conidia of *Pestalotia Paeoniicola* formed on kidny bean agar media ×1200

Pestalotia paeoniicola Tsukamoto et Hino sp. nov.

枝に寄生し，子実層は表皮下に生じ，群生し，小さく，黒色で，球形または亜球形，後広く開口する。分生胞子は4隔膜，紡錘形か又は楕円形，隔膜部で少し収縮する。両端細胞は無色で，中央3胞は褐色，上2胞は濃く，下1胞は淡い。頂端の細胞は三角形かまたは亜三角形で大きさ2～5 ×2.5～3.1 μ，その頂端に3～4本の繊毛があり，その長さ 15～27 μ。基端の細胞は倒三角状で，大きさ3～6 ×2.8～4.0 μ，その基部に無色の柄がある。その大きさ 3.5～7.0×1.0 μ，全体の大きさ（繊毛と柄を除く）は 17～33×6～9 μ である。

✓ *Pestaiotia paeoniicola* Tsukamoto et Hino, sp. nov.

Ramicola. Hymenium hypodermicum, confer-

tum, punctum, nigrum, globosum vel sub-globosum, denique se apertum late, 180–400×80–120 μ. Conidium 4 sepatum, fusiforme vel ellipticum, vix ad septum, constrictis; cellae extremitatium, hyalinae, mediae 3 cellae badiae, quarum superae 2 cellae saturatae infera 1 cella pallida; cella apicis triangularis vel subtriangularis, 2–5×2.5–3.1 μ, apice cum 3–4 cilliis, 15–27 μ, cella basis obtriangularis, 3–6×2.8–4.0 μ, stipes hyalinus, 3.5–7.0×1.0 μ. Tota dimentio conidii (extra cilia et stipitem) 17–33×6–9 μ.

Hab. On *Paeonia suffruticosa* Andr. (Botan) (Cult.)

Pref. Akita: Akita-city (Mar. 15, 1952, E. Tsukamoto —Type, in Herb. Akita Univ.)

摘　要

1. 本菌は著者の一人塚本が昭和 28 年 3 月 15 日秋田市楢山で採集したもので，牡丹の枝を侵す。被害部の周皮は褐色または灰白となり，胞子堆は黒色微小で多数散在す。

2. 人工培養による空中菌糸は，白色綿状で培地は黄褐または黒褐となるが乾葡萄汁寒天基は淡紅色を呈する。菌糸発育の最低温度，7°～8°C，最適 28°～30°C，最高 33°～34°C．胞子形成の最低温度 15°C，最適，28°～30°C，最高，33°C．最適 pH 5.6～5.7 である。

3. 接種試験の結果，本菌は牡丹に対して病原性を有するとこを認めた。

4. 生態並びに形態学的検討の結果本菌と合致する菌を見出すことできないので新種と認め，*Pestalotia paeoniicola* Tsukamoto et Hino と命名し，和名を牡丹の枝枯病とした。

(1956年 3 月 9 日受理)

引 用 文 献

1) Sorauer, J. A.: Foreign Plant Diseases: 57, 64, 83, 162, 182. (1926).
2) Tubeuf & Smith.: Diseases of plants.: 494. (1897).
3) Togashi, K.: Biological Characters of Plant Pathogen Temperature Relations. : 199～200. (1952).
4) 滝元清透: 日植病報, 8: 45～46. (1938).
5) U. S. Department of Agriculture: List of Intercepted Plant Pests. (1920～1935).
6) Westcott, C.: Plant disease hand book: 219～220. (1950).

Résumé

1. This paper deals with results of some physiologial, pathological and also taxonomical studies on the causal fungus of twig blight of tree peony. The fungus was collected at first by the senior writer at Akita City, on March 15, 1952. The disease is of much economic importance but no one has yet studied about it.

2. The writers give new name *Pestalotia paeoniicola* Tsukamoto et Hino to the causal fungus, and propose a common name, twig blight of tree peony for the disease.

3. The first symptom of the disease is indicated by numerous, scattered, dark blackish, minute points produced on the bark of living branches. Then the infected bark becomes to gray in colour. Eventually, all the diseased brances dry out.

4. Optimum temperature of the mycelial growth of the fungus at 28° to 30°C, minimum at 8° to 10°C, maximum about 33°C, it does not grow above 35°C and 5°C., spores are produced from 15° to 35°C, the optimum temperature 28° to 30°C. Optimum hydrogen-ion concentration for the growth of the fungus on potato agar is pH 5.6 to 5.7.

(Faculty of Liberal Arts, Akita University)

病態植物の植物ホルモンに関する研究（第2報）

菌癭中における生長素の動静並びに産生について

平　田　正　一*

Shôichi HIRATA: Studies on the phytohormone in the malformed portion of the diseased plants.
2. On the reformation and the situation of free-auxin in the tissues of fungous galls.

1. 緒　言

この研究の初報[2)]において各種の植物菌癭中には健全植物体に比較してアベナ幼葉鞘を屈曲せしめる植物ホルモンがより多量に含有されていることを報告し，又菌癭中の生長素の分布並びに移動についての結果も若干のべた。その後この種の研究を遂行するに当つて基礎的に必要な菌癭中の生長素の動静についての実験を進め，その実験結果の要旨は既に本誌上に記した[3)]。本文ではさらにその詳細について報告する。この研究には当研究室柳井昭二並びに石丸義則両君の御援助と文部省科学研究助成補助金を頂いた。ここに記して厚く感謝する。

2. 供試菌癭の種類

この研究に使つた菌癭の種類は第1表に示したものである。

Table 1. The fungous galls used for the present studies.

Pathogenic fungus (Abbreviation)	Host plant	Name of the disease
Albugo candida (A. c.)	*Brassica napus* (Yôshu-natane)	White rust
Exobasidium Camelliae var. *gracilis* (E. C.)	*Camellia Sasanqua* (Sazanka)	Gall
E. Symploci-japonicae (E. S.)	*Bobua japonica* (Kuroki)	Gall
Tuburcinia japonica (T. j.)	*Anemone Sieboldi* (Shûmeigiku)	Smut
Ustilago Onumae (U. O.)	*Cinnamomum japonicum* (Yabunikkei)	Smut

3. 菌癭の幼老と含有生長素量との関係

第1報[2)]で報告した菌癭中にはその肥大度と伴わない程少量の生長素を示したものがかなり認められた。これは肥大化の極限前後の試料によつたためであろうと考えられたので，菌癭の発育度と含有生長素量との関係について次の実験を試みた。

Table 2. The amount of free-auxin in the tissues of fungous galls at stated periods of growth.
(Negative curvature of *Avena* coleoptile in degree)

Parasite	Part used	Number of trials	Hymenium: not yet formed	Hymenium: covered with epidermis	Hymenium: externally seen	At the grand period
A. c.	Stem		8.2		6.0	7.7
E. C.	Leaf	1	10.7		7.8	11.6
		2	5.8	5.9	2.8	1.2
E. S.	Stem	1	11.2		12.4	16.1
		2	13.5		1.3	
		3	9.8		1.5	
		4	8.4		4.0	
	Leaf	1	2.6		0.0	
		2	8.1		1.1	
T. j.	Stem		17.0	3.3	0.3	+0.4
U. O.	Bud		29.2*		7.4**	

Remarks: * tip, ** base

* 宮崎大学農学部

実験法並びに結果：一供試菌癭はその発育度によつて4区分した。即ち子実層が，(1)全く形成されていないもの，(2)多少外見されるが全体的に表皮で被われているもの，(3)表皮が破れて裸出しているもの，(4)菌癭の肥大が極点に達した生長末期のものである。

罹病材料は茎は10～15mm の長さに，葉は10×8 mm に切断して供試した。特にクロキでは茎葉共に10 mm の長さに，ヤブニッケイの肥大病芽では10×8×6 mm の切断組織片を供試した。これらの試料採取には比較上の誤差を少くするため同位に形成のものを得る様に注意して行つた。実験は前報[2]に示した方法によつて寒天への直接拡散法で Went 氏のアベナテストによつて屈曲度を求めた。この結果は第2表の如くである。

生長素は一般に肥大初期の菌癭中には多量に認められたが，肥大生長に伴つて漸次減少し胞子形成期のものでは更に低下した。クロキの肥大茎ではこれと逆の関係を示した場合があるがこれは恐らく試料容量の大なるためと思われ単位容量当りの含有量は少いので，やはり同じ傾向に従うものと考えられる。この結果を既報のそれと比較すれば菌癭生長度が生長素含量に大きく影響することが窺われる。サザンカ病葉は葉序の頂位から下位に向つて試験したため明瞭に発育度との関係を表した。この実験と別個の試験でクロキの著しく若い菌癭ではかえつて含量が小さかつた。

4. 菌癭中生長素の垂直的分布

種々の形状に肥大した菌癭組織中における生長素の垂直分布を確かめ，今後の実験遂行上の最適試料をうるための目的で行つた。

実験法並びに結果：一供試菌癭は生長素の組織内移動に伴う乱れを考えて，出来るだけ垂直に向つて発育したものを選んで採取した。肥大茎は第3表に示した様な全長をもつものから各位夫々長さ10 mm づつ切断した円柱片をヤブニッケイは 10×8×4 mm，クロキの肥大葉では自然大径で長さ 10 mm，サザンカでは 15×8×6 mm に切取つたものを供試し含有生長素量を検定した。この結果は第3表に示す通りである。一般にナタネ，サザンカ及びクロキでは下位に多く，ヤブニッケイでは肥大芽の頂位に多かつた。シュウメイギクでは全体一様な連続の肥大部が得られなかつたためその結果に明瞭な差異が示されなかつた。

Table 3. The vertical distribution of free-auxin in the fungous galls.
(Negative curvature of *Avena* coleoptile in degree)

Parasite	Part used	Number of trials	Part: upper	middle	lower	Distance between the extremes of the upper and the lower
A. c.	Stem	1	13.3	16.1	17.5	14 cm
		2	14.5	21.6	23.2	
		3	15.0	18.0	16.3	
		4	21.9	17.3	16.1	
	Leaf	1	1.7	5.9	5.3	5 cm
		2	2.7	3.3	3.3	
E. C.	Stem		8.6		14.9	5 cm
	Leaf	1	2.4		+ 0.1	5 cm
		2	2.6		3.0	
E. S.	Stem	1	3.0		10.7	4 cm
		2	2.8		4.2	
		3	17.1		25.8	
T. j.	Petiole	1	11.5	13.5	10.3	20 cm
		2	10.8	10.2	8.7	
U. O.	Bud	1	9.4	5.5	9.9	4 cm
		2	21.4	8.9	4.6	

5. 菌癭組織片の長さと拡散生長素量との関係

実験法並びに結果：一一様に肥大した若い茎葉の菌癭から各試料をほぼ連ねて，茎の径は自然大のまま，葉では 8 mm 幅として両者とも縦に長い切断片を作り，これらについて生長素量を測定した。その結果は第4表に示した。

表示の如く菌癭組織片の長さが増すに伴つて拡散す

Table 4. The amount of free-auxin diffused from the cut pieces of various size. (Negative curvature of *Avena* coleoptile in degree)

Parasite	Part used	Number of trials	Piece cut		
			5 mm. long	10 mm. long	15 mm. long
A. c.	Stem	1	2.7	3.8	7.2
		2	7.4	8.7	9.0
		3	4.4	5.4	6.7
E. C.	Leaf	1	2.5	5.0	9.0
		2	2.2	4.1	2.2
		3	4.1	3.0	7.2
	Stem		16.7	3.1	14.1
E. S.	Leaf		2.1	4.9	4.5
	Stem	1	8.1	11.3	6.6
		2	+0.2	9.9	13.5
T. j.	Stem	1	3.8	1.1	6.1
		2	7.8		13.9

Remarks: Each leaf piece was cut 8 mm. broad, and each stem was of natural diameter.

る生長素量は増加した。この場合その増加量は試料の長さとは完全に比例を示していない。この結果から供試材料は 10-15 mm 長あれば比較のために有意の実験値を求め得るものと思われる。2 cm 以上の試料では全容の拡散不充分で恐らく含有生長素量の比較は困難と考える。

6. 菌癭中生長素の除去

菌癭中における生長素の産生を試験するに先だち，供試菌癭中の拡散型生長素の除去を必要としたのでこの実験を試みた。

実験法並びに結果：一前記実験結果から考えて試料は肥大進行中の子実体未形成の菌癭を採取し，病茎は 15 mm の長さに，病葉は 15×13 mm の方形に夫々切つて供試した。予め 23°C に保温した水を，水平に張つたガーゼ架をもつペトリ皿に入れて，これに試料の下半部を直立浸漬し， 23°C の定温器中に保持する。所定時間の経過後試料を次々に取出し，空気に触れた切片周囲 2.5mm 幅を切りすてたものについて拡散とアベナテストを行つた。その結果は第5表に示した。

Table 5. The relation between the amount of diffused free-auxin and the duration while the piece was held upright in the standing water at 23° C. (Negative curvature of *Avena* coleoptile in degree)

Parasite	Part used	Number of trials	Check (not treated)	Duration of the treatment					
				1	2	3	4	5	6 hrs.
A. c.	Stem	1	22.4	3.7	3.2	2.5	3.8	1.7	3.3
		2	23.6	6.7	6.8	5.0	5.3	3.8	3.3
E. C.	Leaf		14.4	4.6	7.4	6.0	3.2	2.2	5.0
	Stem		24.0	11.6	12.7	8.1	1.5	2.1	5.4
E. S.	Leaf	1	4.7				0.0		
		2	6.2				0.0		
		3	6.5				+1.3		

菌癭組織中の生長素は水中浸漬の時間の経過に伴つて漸次水中へ拡散され，ナタネ及びサザンカの病組織では5～6時間で殆んど脱去し，僅かの残留生長素を含むのみとなる。表示の数値が区々に示されたが，これは毎区試料の異るために起つたものである。この実験の予備調査のため水温 16°～18°C の水道流水中で行つた結果は生長素の拡散値区々で予期の結果をあげえなかつた。

7. 含有生長素を除去した菌癭中における再産生

実験法並びに結果：一前実験において菌癭組織中の拡散型生長素は殆んど除去される可能性をえたので，前記方法によつてナタネ及びサザンカ病体を各6時間，クロキ病体は4時間夫々浸漬による脱除処理を行つた。これらの菌癭片は更に湿つた沪紙を張つたペトリ皿の湿室内に横たえ， 23°C の定温器中に所定時間

おいた。後取出した試料は空気接触の周辺部を前実験同様に切りすて，これについて拡散によつてアベナテストを行い生長素量の検定を行つた。この結果は第6表に示した。

Table 6. The reformation of free-auxin in the tissues of fungous galls from which the auxin was previously eliminated. (Negative curvature of *Avena* coleoptile in degree)

Parasite	Part used	Number of trials	Check (immediately after the elimination)	Duration in the moist chamber after the elimination			
				12	22	24	48 hrs.
A. c.	Stem	1	2.0			22.6	5.5
		2	2.5			11.6	6.3
		3	3.7			2.7	6.0
E. C.	Leaf		3.3			+2.5	
	Stem		7.0			4.7	
E. S.	Leaf	1		+1.3	0.0		
		2		+1.5	0.0		

ナタネの病茎においては 24 時間後に生長素の著しい再産生が認められたが， 48 時間経過の試料では既に腐敗が起り十分な結果がえられなかつた。恐らく産生生長素は腐敗に伴う酵素活動によつて破壊されつつあるものと思われる。更に他の2菌癭については生長素産生の事実をつかみえなかつた。要するに生長素脱去後においても若い菌癭の中では生長素が産生されることは確かであろう。

8. 電流刺激による菌癭中生長素の移動

実験並びに結果：一電源として3V乾電池を連ねた9～12V電圧を使用し，成極防止電極として，電源一銅電極を浸した硫酸銅液一寒天橋一寒天極を浸した飽和塩化加里液一試料一これと反対の連鎖を経て一電源の連鎖のものを使用した。サザンカの肥大茎（10 mm長）葉（10×8 mm）を乾いたガラス板上に水平に保持し，その切断面に3％寒天小片を密着させて，これに電極を緊接し所定時間電流を通する。後処理試料は成長軸に直角に横断して2等分し夫々の電極側試料とした。以上の操作を2回繰返して各電極側の5 mm長の茎葉2個をもつて1組として生長素量の検定を行つた。クロキ肥大茎はその側面表皮上に寒天片を密接させて，これに通電し，後処理茎は縦に切半して各片の生長素量を検定した。この結果は第7表の如くであつた。

Table 7. The migration of free-auxin in the tissues of fungous galls treated with electric current. (Negative curvature of *Avena* coleoptile in degree)

Parasite	Part used	Voltage in contact with the piece	Duration of time	When the material of 1 cm. long was cut crossways in two			
				Connected pole	Upper half	Connected pole	Lower half
E. C.	Leaf	12 v.	15 mins.	+	8.4	−	6.7
				−	7.7	+	8.5
	Stem	12 v.	15 mins.	+	21.5	−	18.8
				When the material of 1 cm. long vertically was cut in two			
E. S.	Stem	9 v.	15 mins.	+	1.1	−	6.3
			20 mins.	+	5.8	−	4.4
			30 mins.	+	4.7	−	3.0

この実験において菌癭中の生長素は概して陽極側に移動した様に見られる。然し両極間の差異は極めて僅少であり且時に相反の結果を示した。サザンカ病茎の上部に陽極を接した時下部に比して多量を示したことは，電流刺戟による生長素の移動を意味するものではなくて元来上部に多量に含有された試料であつたかも知れない。この実験においては切断面に接触した寒天片中への生長素移動が考えられ実験結果に誤差が加わつていると思う。

9. 考　　察

この一連の実験に当つて終始同一個体の菌癭を供試できなかつたことは1つの難点であつた。従つて実験値が稍区々に示されたが概して実験回数を重ねることによつて一定の傾向を認めえた。野外で形成されたサザンカ菌癭は晴天3～4日の連続でその肥大化は頓挫し含有生長素は殆んど認められない程減少する。斯様な萎凋に傾いた菌癭組織は寒天板に登載されると寒天中の水分を逆に吸収して著しく縮小させて実験誤差をおこす。適宜の降雨条件下の菌癭は発育順調でこの種の研究にとつて最適のものであつた。又この種実験を通じてナタネ白銹病茎は好適の試料であると思われた。

Wolf[9,10]は *Exobasidium Camelliae* var. *gracilis* 及び*Ustilago zeae* の培養沪液中にインドール酢酸（IAA）の形成されることを認めた。この様な1種の植物ホルモンとしてのIAAの組織中における行動は，菌癭内においても高等植物の健全組織中のそれと同様の考慮によつて取扱つてなんら支障ないと思う。以下の考察においてはこの理論によつて記述することとする。

旺盛な発育を継続中の寄主体の或る特定部に寄生侵入した菌癭形成菌は，寄主体組織内に蔓延するに伴つて彼等の代謝物質としての生長素を漸次産生し，寄主体細胞を刺戟して組織の肥大化を促す。従つて極肥大初期の含有生長素量はかなり少い。続いて胞子形成期前後においては組織内菌糸も漸く老化しその繁殖も低下するため生長素の産生は減退する。更に肥大の極限期以降は組織内菌糸の増生の中止に伴つて生長素の産生も停止するものと考えられる。試験の結果に示された生長素量は細胞刺戟に消費された残留ホルモンであるかも知れないが，多量を示したものは産生の多量を意味すると考えて支障なかろう。Thimann[7]は荳科植物の根瘤中の生長素量は未熟のものに多いことを認めている。又これと関係あることは著者[4]の行つた各種の *Fusarium* 菌の生長素産生実験において，産生の最盛期が認められ，培養の継続に伴つて産生の減退が示され菌自体の老化は産生を妨げる様である。この様に細菌及び菌類による生長素の産生はそれら癭瘤の肥大初期に最大である様である。

実験結果では茎菌癭は一般に下位に多量の生長素を認めたが，これは産生ホルモンが高等植物同様に向基的移動をなすものと判断される。このことは葉菌癭においても略同様に認められ，Avery[1]が述べた如く葉内生長素は基部に蓄積される事実に従うものかも知れない。菌癭は高等植物と異り癭瘤内の各部は恐らく産生源たる菌糸が一様に存在するから，高等植物の健体内における産生場所と移動との関係における程厳密には説明しがたいであろう。節が生長素の移動を妨げることは既往の事実であるが，この実験においてはこれに関して一切考慮しなかつた。恐らく節間の圧縮された菌癭ではこれの追究は困難であろう。

Weij[8]の実験では截頭アベナ幼葉鞘を降下する生長素の移動速度は1時間に 10～12 mm であつた。著者の実験での 15 mm の切断茎内の生長素を拡散降下させるに 23°C で2時間では完全には行われないであろう。移動の速度はこの条件下で満されても移動量は Weij[8]の認める如く異るから試料が3倍長となつても比例的に3倍量は拡散されない。

菌癭中の生長素拡散脱去に16°～18°C の水中では好結果がえられなかつたが，Weij[8]の述べた移動速度は温度に関係しないが，移動能力は温度の低下に影響されることによつてもこのことは意義づけられよう。

切断菌癭片中における生長素再産生の実験によつて，菌癭の肥大化のための細胞刺戟は寄生菌の産生ホルモンによることは疑いない。切断片中における再産生はこの場合ホルモン前駆物質の導入が遮断されるから無限の産生は許されない。殊に腐敗に伴う醱酵活動によつて産生ホルモンは積極的に破壊されるであろう。

高等植物の体内における生長素の移動を電気的に説明づける満足な論拠は今日尚未知である。実験における如き生長素の陽極側への移動は高等植物においても屢々認められている[6]。著者のこの不備と思われる実験法に基くこの結果についての論議はさし控えたい。サザンカ菌癭中の生長素が向頂的移動によつて陽極側に集ることは，高等植物の組織内における生長素の移動では先ず認められないから移動と認めない方が妥当であろう。（1956年7月17日受理）

参 考 文 献

1) Avery Jr., G.S.: Bull. Torrey Bot. Club, 62: 313～330. (1935).
2) 平田正一：日植病報，19: 33～38. (1954).
3) ——：日植病報，20: 118. (1955).
4) ——：未発表
5) 川田信一郎・八巻敏雄共訳：植物ホルモン. (1951).
6) Koch, K.: Planta, 22: 190～220. (1934).
7) Thimann. K.V.: Proc. Nat. Acad.Sci., 22: 511～514. (1936).

8) Weij, H. G. van der: Rec. trav. bot. néerl. I. 29: 379～496. (1932), and II. 31: 810～857. (1934).

9) Wolf, F. T.: Proc. Nat. Acad. Sci., 38: 106～111. (1952).

10) ——: Phytopath., 42: 147～149. (1952).

Summary

In 1954 the writer reported on the quantitative survey of the free-auxin contained in various fungous galls and normal plants. The present article describes the results demonstrated with the regular Went's *Avena* test on the reformation and situation of free-auxin in the tissue of fungous gall as tabulated in Table 1. The results obtained are concluded as follows;—

The free-auxin in the young galls where the hymenium was not yet formed showed the maximum in quantity as compared with any other older galls. It gradually decreased as the gall formed the hymenium, and then became very small when the growth of gall reached at the grand period (see Table 2).

As for the distribution of free-auxin in the gall, the upper part generally contained it in smaller quantity than the other parts, and the quantity gradually increased as the part of collection was situated lower. Such a fact may show that the free-auxin formed in gall migrates down toward the root pole. The longer the longitudinal length of the stem- and or leaf-gall is taken, the greater the quantity of auxin is diffused. Such an ability of migration, however, was not shown to be in exact proportion to the size of the piece of gall, and the remaining quantity of auxin in the piece increased as the size is taken larger (see Table 3 and 4).

When the cut piece of gall was put upright in water in petri dish and held still in an incubator at 23°C., the contained auxin diffused off into the water in 6 hours or so, though a small quantity of it remained in the piece (see Table 5). On the contrary the negative result was shown as the diffusion was done in running water at 16-18°C. Rape plant infested with *Albugo candida* from which the auxin was eliminated according to the very procedure formed the auxin again abundantly in its stem tissue in the moist chamber at 23°C. in 24 hours. The same results were not obtained with the plant tissues infested with *Exobasidium Camelliae* var. *gracilis* and *E. Symploci-japonicae* (see Table 6). It seems to the writer, therefore, that the most part of auxin in the gall tissue are produced by these parasitic fungi themselves.

Both cut terminals of gall piece of a certain length were connected to the dry cell of a definite voltage for a definite time (in minutes), and then they were cut vertically or crossways. The auxin of the cut tissues at each side of electric poles were measured. The result obtained showed that the tissue at the positive side contained the auxin slightly more in quantity than that at the negative.

In all these experiments the fact that the node controls the migration of auxin was not taken in consideration.

(Faculty of Agriculture, Miyazaki University)

文 献 紹 介

大麦黒穂病の防除に微生物の対抗力の利用

Chinn, S. H. F. & Russell, R. C.: Can. J. Agr. Res., 36: 1～7. (1956).

Pseudomonas viscosa は大麦堅黒穂病菌及裸黒穂病菌の厚膜胞子の発芽及生長を可成強く阻止したが，*Bacillus subtilis* は生長を稍々阻止したのみで，酵母菌は何の影響も与えなかつた。堅黒穂病は罹病種子を *P. viscosa* 又は酵母菌の培養液に室温で 50 時間，又は 86°F に 40 時間浸漬することによつて殆んど完全に防除されたが，*B. subtilis* の培養液又は水浸漬による防除効果は認められなかつた。*P. viscosa* 及酵母菌培養液浸漬は有機水銀剤と同様の防除効果が認められたが，収量は有機水銀剤処理より低下し，特に酵母菌にその傾向が甚しかつた。裸黒穂病は *P. viscosa* の培養液又は水に室温で 60 時間浸漬することによつて完全に防除され，76°F, 40 時間又は 86°F, 22 時間浸漬でも良好な防除効果が認められた。66°F, 50 時間浸漬は効果が余り認められなかつたが，*P. viscosa* 処理の方が水浸漬より稍々効果が認められた。酵母菌は堅黒穂病菌に対して抗菌力がないが，種子処理によつて防除効果が認められる理由については今後更に研究したい。又，実用面に於て堅黒穂病又は裸黒穂病に夫々単独に罹病した場合には夫々有機水銀剤又は冷水処理が有効であるが，両者に罹病した場合には有機水銀剤や水処理では防除できず，*P. viscosa* 培養液処理が効果があるからこの面に応用の可能性がある。

（山中　達）

秋落稲の胡麻葉枯病罹病性に関する研究

第 2 報　病原菌培養沪液の毒性並びにその Pectic enzyme, Cellulase, Xylanase 作用について

浅　田　泰　次*

Yasuji ASADA: Studies on the susceptibility of Akiochi (autumn-decline) rice plant to *Helminthosporium* blight.
(II). Toxicity of culture filtrate to rice leaves and activities of pectic enzyme, cellulase and xylanase of *Cochliobolus miyabeanus*.

稲胡麻葉枯病菌は殺生菌[1,12]であるから，寄主から栄養をとるためには寄主細胞を死滅させる何らかの働きかけが必要である。これにはイモチ病菌における piricularin や α-picolinic acid[9] のように特殊な毒素の作用による場合と，cellulase や pectic enzyme のような酵素作用によつて細胞膜を分解しその後寄主細胞が死滅する場合[11]が考えられる。本菌は寄主の細胞間隙を生長するので[10] cellulase, pectic enzyme xylanase を分泌することは当然予想されるが，筆者は本菌の殺生機作を知るため，本菌が毒素様の物質によつて殺生作用をいとなむものか，或は酵素作用であればどんな酵素が働くか，及びこれら酵素の性質を知る目的で 2,3 の実験を行つた。

実験に当り種々御指導賜つた吉井啓教授，御援助戴いた木曾皓助手に厚く感謝する。

1. 実験方法

供試菌は当研究室保存 H-1 号菌[4]，培地は筆者の創製したもの[4] 或は Richard 処方薬を稲藁煎汁液（稲藁 100 g を 1 l の蒸溜水で 100°C で 1 時間浸出）に溶解したものを用い，250 ml 容三角フラスコに 20 ml 分注するか，或は 200 ml 容広口壜に 50 ml 分注したものを，28°C で前者は 7 日間，後者は 30 日間培養後沪過し，陳久沪液として毒性試験を，或は所定の容量にしてこれを体外酵素液として用いた。体内酵素液は前記の菌体を用い，体外酵素液と同量の蒸溜水で磨砕し（日本精器製 Homogenizer 使用），25°C で 1 時間浸出してから沪過して供試した。実験は 1 % 基質液 2ml, McIlvaine 緩衝液 4ml，酵素液 4 ml にトルオール 1 ml を加えて 25°～35°C で作用させた。基質には Pectin（片山化学製），Xylan（稲藁より日比野[3] の方法により自製），Cellulose（沪紙）を用いた。酵素の活性比較には基質が分解されて生じた還元力を Dinitro-salicylic acid で光電比色計（日立製）を用いて比色定量したが[8]，酵素液には最初から残糖その他の還元物質が存在するため，各試験区に対照として酵素液を 100°C で 1 時間加熱して不活性化し，酵素液と同様に作用させて発色し，試験区の数値から差引き還元力を還元糖量として計算比較した。pH の測定はガラス電極 pH 測定器（島津製）を使用した。実験結果は 3～5 回実験の平均値である。

2. 実験結果並びに考察

（1） 陳久培養沪液の毒性　逸見，松浦[6] は本菌培養沪液の蚕豆挿枝に対する毒作用を報告したが，本菌は蚕豆には殺生生活を行わないから，直接寄主稲に作用させてその毒性をみる方が望ましい。また菌の代謝産物によつて稲葉成分自体が毒物質に変化する可能性もあり，このため稲藁煎汁加用の Richard 培地と合成培地の両者を用い，培養後 10, 20, 30, 40 日目の沪液を供試した。次に春日井氏処方の水耕液[7] に生育させた稲葉の同一部をとり，直接及び針で穿孔したものを沪液に浸すか或は 30 分間減圧してから常圧にもどして沪液を吸収させ，28°C に保つて 1 週間毎日観察した。これらの結果は培養日数，稲葉の各処理の如何に拘らず，いずれも肉眼的異常を認めなかつた。故に本菌は培養液中に寄主稲に対し特に有毒な代謝産物を分泌するとは考えられず，その殺生作用は酵素作用と菌絲の機械的作用によつて細胞膜を分解し，そのために健全組織が死滅すると考えられる。本菌が主として寄主の細胞間隙を伸長する事実[10]から，栄養を吸収するためには多少とも細胞膜の構成成分である xylan, cellulose, pectin の分解が必要である。そこで筆者はこれらを分解する酵素の作用条件（温度，pH）並びに培養に伴う活性の変化を調べた。

(2) 体外酵素としての Pectic enzyme, Xylanase, Cellulase の作用　先に赤井[2] は本菌の体内酵素としての cellulase について実験し，pH 5.5～6.0 温度 35°C 附近で活性が最も大であると報告した。筆者

* 愛媛大学農学部植物病理学研究室

は前の実験から殺生作用を行う菌の酵素は菌体外に分泌されるものと考え，培養沪液中の pectic enzyme, xylanase, cellulase の活性と最適作用条件を調べた。結果は第 1,2,3 表の通りである。これらの結果，pectic enzymeは pH7 前後，温度 30°C, xylanaseは pH 6～7, 温度 30°C, cellulase は pH 5, 温度 35°C で最も力価が大であつた。これらの3酵素を還元糖の生成量で比較すると，pectic enzyme が最も強力であり

Table 1: Relation of pH and temperature to pectic enzyme activity in the culture filtrate of *Cochliobolus miyabeanus.*

Temp. \ pH	3	4	5	6	7	8
35(°C)	0mg	0	0	3.25	16.25	1.65
30	0	0	0	9.75	35.75	9.75
25	0	0	0	3.25	13.00	11.40

Table 2: Relation of pH and temperature to xylanase activity in the culture filtrate of *Cochliobolus miyabeanus.*

Temp. \ pH	3	4	5	6	7	8
35(°C)	0mg	0	3.25	9.75	9.75	6.50
30	0	3.25	3.25	13.00	13.00	9.75
25	0	0	6.50	13.00	9.75	9.75

次いで cellulase, xylanase となる。健全稲葉の pH は 6 附近にある[5]から，cellulase や xylanase が作用し易い状態にあると思われる。pectic enzyme は後述の如く培養日数が経過し pH が上昇した時に強力に作用すると考えられる。

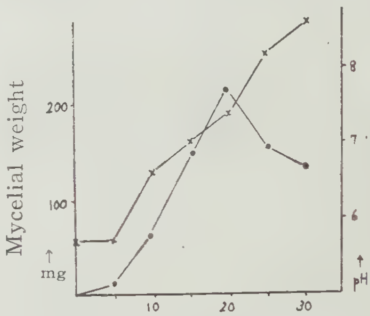
Table 3: Relation of pH and temperature to cellulase activity in the culture filtrate of *Cochliobolus miyabeanus.*

Temp. \ pH	3	4	5	6	7	8
35(°C)	0mg	9.75	26.00	19.80	3.25	0
30	0	6.50	22.75	16.25	3.25	0
25	0	6.50	16.25	16.25	6.50	0

(3) 培養に伴う Pectic enzyme, Cellulase, Xylanase 活性の変動 酵素の作用条件がわかつたので，次に培養に伴う変化を各酵素の最適作用条件下で測定した。即ち最初どの酵素が強力であるか，時間的にどのような変動があるかを知る必要がある。結果は第4表に示す如く培養初期には cellulase が強力で xylanase これに次ぎ，pectic enzyme は全然分泌されない。pectic enzyme の最適 pH は7附近にあるが，この時期における培地の pH が未だ酸性にあるため分泌し難いのではなかろうか。

Table 4. Changes of pectic enzyme, cellulase and xylanase activities in the culture filtrate and in the mycelium of *Cochliobolus miyabeanus.*

Enzyme \ Days after inoculation		5	10	15	20
Pectic enzyme	Exo.	0	19.500	—	1.690
	Endo.	0	0.006	—	0
Cellulase	Exo.	4.875	16.250	0.195	0.130
	Endo.	0.059	0	0.020	0.026
Xylanase	Exo.	1.625	6.500	1.008	1.820
	Endo.	0.078	0.013	0.013	0.169



Days after inoculation
——•—— mycelial weight
——×—— pH

Fig 1. Changes of pH in culture filtrate and mycelial weight accompanied by the growth of *Cochliobolus miyabeanus.*

培地は第1図に示す如く培養日数の経過に伴つて pH が上昇し自己消化が始まるとさらに上昇するが，このことは病斑がアルカリ性であり，また病斑の拡大に伴つて pH が上昇する事実[5]と一致している。培養10日後では pectic enzyme が最も強力で cellulase, xylanase の順で減じた。15 日後は各酵素共，体外酵素の活性は低下するが，体内酵素は反対に強力になる。これは菌体量が増加するためと考えられる。体内酵素の活性は体外酵素の多くとも1％程度であり，故にこれらの酵素はいずれも菌体外に強力に分泌される構成酵素と考えられる。

以上の結果これらの酵素が殺生作用に関係していることは疑いないが，本病々斑には崩壊部が存在しないことから，酵素作用によつて細胞膜を一部分解するが，それを栄養源とはしていないと考えねばならない。故に本菌の栄養吸収は，寄主の細胞間隙を伸長しつつ，部分的に cellulase, xylanase, pectic enzyme の作用によつて細胞膜を分解して寄主細胞を死滅させて養分をとつていると考えられる。

3. 摘　要

稲胡麻枯病菌は菌体外にpectic enzyme, xylanase, cellulase を分泌するが，これらの最適作用条件は pectic enzyme は pH 7, 温度 30°C, xylanase は pH 6～7, 温度 30°C, cellulase は pH 5, 温度 35°C である。これらの酵素は体内酵素としてより体外酵素の方が著しく強力である。培養初期には，cellulase, xylanase が，その後 pectic enzyme が分泌され，培養後期には pectic enzyme が最も強力で，cellulase これに次ぎ xylanase は最も弱い。培養沪液の稲葉に対する毒作用は見られず，故に本菌の殺生作用の一つは上記の酵素作用であろうと考察した。

(1956 年 2 月 1 日受理)

引 用 文 献

1) 赤井重恭： 禾穀類の病害に関する研究（謄写印刷）： 5～7.（1945）.
2) ————： 植物病害研究，4：64～70.（1951）.
3) 荒木長次： 化学実験学，Ⅱ． 東京，（1943）. p. 366.
4) 浅田泰次： 日植病報，21：68～70.（1956）.
5) ————： 未発表
6) Hemmi, T. & Matsuura, I. : Pro. Imp. Academy, Ⅳ：185～187.（1928）.
7) 春日井新一郎： 土肥，13：669～822.（1939）.
8) 大槻虎男： 標準生化学実験，東京，(1953). p.18.
9) 玉利勤治郎： 科学，25： 18～23. (1955).
10) Tullis, E. C. : Jour. Agr. Res., 50 : 81～90. (1935).
11) 瓜谷郁三・村松敬一郎： 農化，27： 24～29. (1953).
12) 吉井　甫：日植病報，9：170～172. (1939).

Summary

Cochliobolus miyabeanus secretes pectic enzyme, xylanase and cellulase in the cultute filtrate. The optimum conditions of their activities are as follows: Pectic enzyme is in pH 7 and at 30°C., xylanase in pH 6–7 and at 30°C. and cellulase in pH 5 and at 35°C. In these enzymes, the exoenzyme is more active than the endoenzyme. In the culture, at first cellulase and xylanase are secreted but pectic enzyme is not, and later pectic enzyme becomes more active than the others.

The toxicity of culture filtrates to rice leaves are not observed. From these results, the writer assumes that the perthophytic action of this fungus to rice plant is not due to the metabolic products like toxin, but to the action of the enzymes. (Faculty of Agriculture, Ehime University)

文 献 紹 介

バイラス媒介能力からみたモモアカブラムシの系統

Stubbs, L. L.: Aust. J. Biol. Sci., 8: 68～74 (1955).

ホウレンソウの yellows virus はモモアカアブラムシによって伝搬される persistent 型のバイラスである。著者はこのバイラスのアブラムシ体内の保毒期間を確かめる実験で結果が区々の所から，アブラムシの個体間に媒介能力の差があるのではないかと考え，以下実験を行った。モモアカアブラムシの雌成虫を選び1匹ずつ隔離飼育し9つのグループをつくり，各グループの仔虫のコロニーから5匹を選びだし，24 時間病植物を吸収させた後，これを検定植物1個体に着生させる。1日加害させた後，次の検定植物に移し，このようにして順次4個体の検定植物に移して，発病をしらべた所，9つのグループ中，3つは4個体とも発病したが，1つは3個体，4つは2個体，1つは1個体しか発病しなかった。そこで更にこの実験で媒介能力の高かったコロニーと低かったコロニーを用い同様の試験を4回ずつ行って比較したが，矢張りコロニーにより媒介能力に明らかな差があった。即ちモモアカアブラムシにはホウレンソウ・yellows virus の媒介能力からみて系統が存在するようである。（小室康雄）

Tobacco ringspot virus によるジャガイモの病気 2 種

自然状態でジャガイモが Tobacco ringspot virus に感染した例は今迄あまり多くないが，ドイツではGelbfleckigkeitならびにBukettkrankheit の2種類の病気がこのバイラスによっておこることが報告されている。Gelbfleckigkeitの病徴はPotato aucuba mosaic virusによっておこるジャガイモの黄斑性モザイク病と区別できない。Bukettkrankheit の病徴は畑では様々であるが，一般に植物体の発育悪く，叢生状であり，葉は葉脈の所で著しく曲っている。いずれの病気も，タバコその他の植物への汁液接種，電子顕微鏡観察，血清試験，Cross protection test などの結果から考えれば,Tobacco ringspot virus の strain によっておこるものであることが想像される。ジャガイモへの人工接種は汁液では仲々困難であるが，接木では容易である。畑ではいずれの病気もタバコの畑の附近で発生が認められ，タバコが伝染源になっているものと考えられる。（与良　清）

文献： Köhler, E.: Angewandte Bot., 22: 385～399. (1940) ; Phytopath. Z., 19:289～294. (1952).
Gehring, F. & R. Bercks: Phytopath. Z., 27: 215～234. (1956).

雑　　録

最近における植物病原細菌の分類について
II. 極毛性グラム陰性桿菌

Masao GOTO: Recent development in the classification of phytopathogenic bacteria.
II. Gram negative organisms with polar flagella.

後　藤　正　夫*

極毛性グラム陰性桿菌は多数の植物病原細菌を含む重要な群で Bergey の分類では Pseudomonadaceae に属している。かつては *Pseudomonas* (Migula), *Bacterium* (Smith), *Bacterium* (Lehmann & Neumann) 及び *Phytomonas* (Bergey et al.) 等種々の属名で呼ばれてきたが，最近では2つの相異なる属に分けて取扱う方法が採用されており，広く植物病理学者の賛同を得ている。その1つは黄緑色の水溶性色素を生ずる *Pseudomonas* であり，他は黄色集落を形成する *Xanthomonas* である。

1. *Pseudomonas*

A. 属名について *Pseudomonas* という属名は最初 Migula (1896) によつて極毛性桿菌に対し，*P. aeruginosa* を Type Species として与えられたものである。しかし Migula の分類は周知の様に細菌の形態，就中，鞭毛の有無配列に基いたものであり，グラム反応を含む細菌学的性質は全く無視されたものであつた。従つて，これは最近著しく修正されて最初のものとは全く内容を異にしたものとなつてきた。

即ち Bergey らは Manual of Determinative Bacteriology (1923～1948) の中でこの *Pseudomonas* Migula を採用しているが，第5版[1]では Bergey によつて修正され，更に第6版[2]では植物病原細菌担当の W.H. Burkholder が *Phytomonas* を *Pseudomonas* と *Xanthomonas* に分け，前者を *Pseudomonas* Migula に編入するに際して，R. S. Breed により再び修正された。

Dowson[11]は多数の植物病原細菌について研究した結果，いわゆる "Green fluorescent bacteria" を *Pseudomonas* と命名し，*P. fluorescens* を Type Species とした。この属を構成する細菌は1～7本の極毛を有するグラム陰性桿菌で，ラクトーズ，マルトーズおよびサリシンから酸を出さず，黄緑色色素 Fluorecin を生ずるものである。従つて，この属は *Pseudomonas* Migula emend. Dowson とすべきで Elliott[17,18]及び Magrou and Prevot[28,29]* らが用いている *Pseudomonas* 属もこれである。

---

* 静岡大学農学部 (Fac. of Agr., Shizuoka Univ.) 昭 36. 6 (1956)

* Magrou et Prevot[29]はグラム反応，運動性，生態学的性質の3性質を基礎にして新しい分類を提案した。即ち氏らは Pseudomonadaceae Winslow et al. の運動性を "単極毛又は束毛，稀に周毛により運動する。ある種は不動性である (*Aplanobacter*)。" と改め，次の様な分類を試みている。

Pseudomonadaceae (Winslow et al.) emend. Magrou et Prevot	Tribe I Pseudomonadeae K. et V.	Genus I	*Pseudomonas*	type	*Ps. fluorescens*
		II	*Phytobacterium*	type	*Ph. fabae*
		III	*Agrobacterium*	type	*A. tumefaciens*
		IV	*Xanthomonas*	type	*X. hyacinthi*
			Sub-Genus. *Cellulomonas*	type	*C. biazotea*
		V	*Erwinia*	type	*E. amylovora*
		VI	*Aplanobacter*	type	*A. stewarti*
	Tribe II Achromobactereae Magrou et Prevot	Genus I	*Achromobacter*	type	*A. liquefaciens*
		II	*Mycoplana*	type	*M. dimorpha*
	Tribe III Chromobactereae Prevot	Genus I	*Chromobacterium*	type	*C. violaceum*
		II	*Flavobacterium*	type	*F. aquatile*
		III	*Protaminobacter*	type	*P. alboflavum*
		IV	*Serratia*	type	*S. marcescens*

即ち氏らは植物に病原性を有する細菌は鞭毛の配列，生理的性質の如何を問わず総て Pseudomonadaceae の中に包含し，しかも第1族にまとめている。*Cellulomonas* 属は黄色集落を形成するセルローズ溶解性の周毛性桿菌であるが，重要な性質の相異は単に cellulase の有無にあるとの理由で *Xanthomonas* 属の亜属としている。又 *Erwinia* 属は土壌又は水棲細菌で，生態学的秩序を考慮に入れると，これを腸内細菌科 *Enterobacteriaceae* に属せしめることは不可能であると述べている。

この様に Dowson が提案した属は最近広く採用されつつあるが，この属に入る植物病原細菌の内には属の特徴である重要な性質において相違したいくつかの種 (Species) が含まれている。例えば *P. solanacearum* は系統によつてラクトーズおよびマルトーズを分解するものがある他，如何なる培地においても黄緑色色素を生ずることがない。現在のところこの様な例は，他には知られていないが，かつては生理的性質を重視してタバコ立枯病菌を *Xanthomonas* に入れたこともあつた。また *P. andropogoni* や *P. panici* の様に大部分の性質は *Pseudomonas* に一致するが如何なる条件においても色素を生じないものがある。色素産生を分類の基準として採用することに対しては議論の余地が多分にあるが Dowson の *Pseudomonas* が色素産生を重要な属の特徴としてあげていることは事実である。従つて色素産生を分類上重要な性質としてとり上げるならば，色素非産生菌の分類学的所属が問題となつてくるのは当然であり，Magrou and Prevot [28,29]* は，かかる観点から22種の色素非産生菌に対して *Phytobacterium* 属を新設して *Pseudomonas* と区別した。

Patel and Kulkarni [32] は *Phytobacterium* Magrou et Prevot の創設には賛成しているが，*Pseudomonas* emend. Dowson に属する植物病原細菌を総て新属 *Chlorobacter* に移した。即ち氏らは植物に対する病原性を重視し，植物病原細菌をまとめて科 Family に独立すべきであると主張し，Phytobacteriaceae ** を設けた。従つてこれに含まれる属は総て植物病原細菌によつて構成さるべきであるが *Pseudomonas* は元々 *P. fluorescens* を Type Species として設けられた属で腐生性細菌を多く含むため，この中に植物病原細菌を入れることは出来ないというのが *Chlorobacter* 属新設に対する氏等の論拠である。

Burkholder [4] は Bergey's Manual 第5版(1939) における *Phytomonas* 中，Green fluorescent group (Appendix I) は，ある種の培地から Fluorecin を産生する細菌によつて構成されてはいるが，Fluorecin 産生という唯一つの性質のみで，この群を規定するのではないことを明らかにした。即ち一つの種の中にも，色素を生ずる系統と，然らざる系統があるが，これらは何れもこの群に入れるべきであると述べている。Bergey's Manual 第6版 (1948) では Burkholder の意見を採用して属の特徴を修正しているので，この分類に従う限り，色素非産生菌に対し，新属を設けて区別する必要は認められない。次に今までに引用した属の特徴を記すと次の如くである。

1. ***Pseudomonas*** Migula 1895 (Migula の原記載)。短桿状又は長桿状，時に短い鎖状をなす。極毛により運動する。鞭毛数は 1～10 本 (多くは1本又は3～6本) で，ある種 (Species) では内生胞子を形成する。

Type Species—*Pseudomonas aeruginosa* (Shroeter) Migula.

2. ***Pseudomonas*** Migula (Bergey's Manual, Ed. 5, p. 125, 1939. Bergey により修正)。主に水棲菌及び土壌細菌。培地に拡散する水溶性緑色，青色又は黄緑色色素を生ず。運動性又は非運動性，グラム陰性。

Type Species—*Pseud. aeruginosa* (Schroeter) Migula.

3. ***Psedomonas*** Migula (Bergey's Manual, Ed. 6, p. 82, 1948, R. S. Breed により修正)。単毛，束毛又は非運動性。色素を生ずる場合，それは水溶性，緑色螢光性色素である。3種の例外を除きグラム陰性。屢々グルコーズを醱酵し，時にガスを生ずる。ラクトーズを醱酵しない。硝酸塩を屢々亜硝酸塩，アンモニヤ或は遊離窒素に還元する。ある種の菌は脂肪を分解し炭化水素を分解する。土壌細菌，水棲菌および植物病原細菌から成るが動物病原細菌は極めて稀である。ある種の海水棲細菌（あるものは濃い塩水に生棲）は非水溶性色素 Phosphorescense を生ずるが暫定的にこの属に止められている。

Type Species—*Pseud. aeruginosa* (Schroeter) Migula.

4. ***Pseudomonas*** Migula emend. Dowson 1939 (Zentralb.f.Bakt., II, Abt. Bd. 100, 177～193. 1939)。無胞子，グラム陰性桿菌，極毛1～7本 (平均3本)，寒天培地上の集落は灰白色乃至透明，黄緑色

** *Phytobacteriaceae* Patel et Kulkarni
集落は黄色，白色，螢光色又はその変異。短桿菌又は長桿菌。単極毛～束毛又は周毛或は非運動性。大部分グラム陰性，少数グラム陽性。無胞子。包囊有又は無。非抗酸性。セルローズ非分解性。インドールの産生無，或は僅かに有。好気性。ブドウ糖を醱酵してガスを生ずるか又は生じない。発育適温 20～30°C 最高温度 37°C 致死温度52°C 以下。植物病原細菌で葉斑点病，潰瘍病，軟腐病，癌腫病，萎凋病および葉焼病の原因となる。氏らはこの中に *Xanthomonas, Phytobacterium, Chlorobacter, Agrobacterium, Aplanobacter, Pectobacterium* 及び *Erwinia* の7属を含ましめた。

色素 Fluorecin を産生し，ジャガイモ培地上でクリーム色，肉淡紅色，サリシン，ラクトースおよびマルトーズから酸を出さない。

Type Species—*Pseud. fluorescens* (Flügge) Migula

5. ***Chlorobacter*** Patel et Kulkarni 1951 (Indian Phytopathology, iv, 74〜84. 1951) 水溶性黄緑色色素産生，極毛1〜数本，グラム陰性，多くは自然開孔部より寄主体に侵入。大部分のものがゼラチンを溶解し，澱粉を糖化するが脂肪を分解しない。数種の単糖類及び二糖類から酸を出すがガスを出さない。サリシンを分解しないがラクトーズを分解する。M.R. 及びV. P. 試験は陰性。植物病原菌で葉，茎，果実及び枝梢の斑点や潰瘍を起すが葉焼を起すことは稀である。

Type Species—*Ch. syringae* (van Hall) P. et K.

6. ***Phytobacterium*** Magrou et Prevot 1948 (Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. 226; 1229〜1230, 1948) 無胞子，グラム陰性桿菌，1本乃至数本の極毛を有し運動性。白色集落を形成。すべて植物病原菌である。

Type Species—*Phytobacterium fabae*

B. 種名について *Pseudomonas* 属に入る植物病原菌の種類は Bergey's Manual (1948) では86種，Elliott's Manual (1951) では92種をあげているが，これらの多くは寄生性が広く，性質も類似したものが多い上に，従来種の同定に用いられてきた細菌学的性質は極めて限られた数であるため，実際問題として種を決定することは容易でない。Burkholder 及び Starr[5] は従来種の決定に用いられてきた細菌学的性質の多くは属の特徴とはなつても，これによつて種を区別することは不可能であると述べ，庶糖分解性，ゼラチン溶解性，硝酸塩還元性，酒石酸ソーダの利用，ペクチンの利用，食塩耐性，チロシナーゼ活性，及び脂肪分解性等について分類学的な価値を検討している。Clara[10] は庶糖分解性によつて *Pseudomonas* 属菌を2つの群に分け，非分解性群は腐生菌か，又は狭い寄主範囲をもつた病原性の弱い細菌から成ると述べているが最近ではこの説は必ずしも妥当でない。

この属の病原菌は一般に広い寄主範囲をもつたものが多いので同種異名を含む可能性が強く，今日まで菌種の比較同定に関する研究は非常に多くなされたが，中でも最も広く研究されたのは *P. syringae* と *P. marginalis* であろう。

P. syringae は初め "citrus blast" 病菌として van Hall によつて報告されたものであるが，その後 Bryan[7], Clara[10], Wilson[43], Bergey et al.[1], Elliott[18] らにより14種の細菌が異名として整理された。

P. marginalis は初め Brown[8] によつてレタス縁腐性細菌病菌として報告された菌であるが，その後 Paine and Branfoot[34], Elrod and Braun[21] 及び Mehta and Berridge[30] らの研究によつて *Bact. aptatum*, *Phytomonas polycolor* と共に *P. aeruginosa* の異名であるという意見が強くなつてきた。しかし Dowson[16] は *P. marginalis* と *P. aeruginosa* の著しい近縁性を認めながらも，なお別種として取扱つており，病原性及び Pyocianin 色素の産生で一応区別している。Burkholder[6] は *P. intybi* を *P. marginalis* の異名としたが，*P. aeruginosa* との異同については発育温度，Pyocyanin 産生，肉汁の着色，ラクトーズ及びマルトーズの利用等の点で両者を明らかに区別している。この様に植物病原細菌としての *P. aeruginosa* の存在についてはまだ必ずしも意見の一致をみないが，今日ではもはや否定し得ない段階にあると思われる。ともかく *P. aeruginosa* が菌株によつて動物（兎）および植物（レタス，タバコ）に病原性を示すことが確認された (Elrod and Braun[21], Stapp[39]) ことは，この細菌が特殊な菌であることを示すものとして注目に価する。最近では *P. syringae* および *P. marginalis* は共に Protopectinase を出して種々の蔬菜類を軟化腐敗せしめることが明らかにされ，世界の各地で腐敗病菌として注意を惹く様になつてきた。(Dowson[12,16], Friedman[22,23], Hingorani and Malla[27] その他)。又 Dowson[13] は *P. medicaginis* var. *phaseolicola* がカブの腐敗病を起すことがあることを報告し，恐らく *Pseudomonas* 属の多くのものがこの能力を有するであろうと述べているが，その後追試が行われていないので真偽のほどはわからない。

最近では後藤及び岡部[24]は *P. setariae* 及び *P. panici-miliacei* が *P. panici* の異名であることを明らかにした。又 Tessi[40] は *P. striafaciens* と *P. coronafaciens* は同一種で，Halo 形成性の毒素生産能を有するか否かが両者の主な相違点であり *P. coronafaciens* がこの毒素形成能を失うと水浸状の条斑を形成する様になり，両者は区別がつかなくなると報告している。

Patel et al.[31] は *P. radiciperda*, *P. rhizoctonia*, *P. polygoni* など30種余の植物病原細菌に対し運動性，グラム反応，温度関係および病原性などの点において再検討を要すると述べている。

2. *Xanthomonas*

A. 属名について　これは Dowson[11] によつて創設された属で特徴ある粘質，黄色集落を形成する細菌を含み，総て植物病原細菌からなつている。この細菌群は古くから特殊のグループとして認められていたが Dowson によつて初めて属として独立された。即ち Burkholder[8] はこの黄色細菌群を *Phytomonas* の中の1つの Natural group と認めたが，Bergey's Manual 5版 (1939) では *Phytomonas* proper として現在の *Pseudomonas* (*Phytomonas* Appendix I) 及び *Agrobacterium* (*Phytomonas* Appendix II) と区別した。Dowson[11] はグラム陰性，極毛桿菌を詳細に研究した結果，固形培地上で豊富な黄色粘質性集落を形成するものを *Xanthomonas* として独立せしめた。これは，その後 Elliott[17,18], Starr and Burkholder[35], Magrou and Prevot[28,29] Bergey et al.[2] 及び Patel and Kulkarni[32] らによつて異議なく承認された極めて自然的な分類である。Starr and Burkholder[35] 及び Burkholder and Starr[5] は *Xanthomonas* 属の特徴として Dowson の記載以外の諸性質をあげており，その中の主なものは Burkholder により Bergey's Manual に記載されているが属の内容は Dowson のものと同じである。両者の特徴を比較して記すと次の如くである。

1. ***Xanthomonas*** Dowson 1939 (Zentralb. f. Bakt. II. Abt. 100, 187. 1939) 無胞子桿菌，グラム陰性，極毛1本（稀に2本）又は無毛，固形培地上で豊富な粘質黄色の発育をなす。大部分の種が澱粉を糖化し，ラクトーズから酸を生ずるがサリシンから酸を生じない。

　Type species—*Xanthomonas hyacinthi* (Wakker) Dowson

2. ***Xanthomonas*** Dowson (Bergey's Manual, Ed. 6, p. 150, 1948) 普通単極毛，非水溶性黄色色素を有する。一般に容易に蛋白質を分解する。ミルクをアルカリ化し硫化水素を生ずる。唯一の炭素源および窒素源としてアスパラギンは不充分である。単糖類及び二糖類から酸を生ずる。大部分のものが植物に壊疽を生ずる。

　Type species—*Xanthomonas hyacinthi* (Wakker) Dowson

B. 種名について　この属に入る細菌は寄生性が著しく特異的で，夫々の菌が分離された寄主植物にのみ病原性を示すのに対して，その細菌学的性質は殆んど同一であり，これがため細菌学的性質によつて種を同定することは殆んど不可能な状態である。又この様に寄生性が特異的であるために，従来新種の同定に当つては，接種試験を極めて限られた範囲の植物に対してのみ行う傾向が強かつた。従つて *Xanthomonas* の中には異名を含む可能性が考えられ，これについて多くの研究がなされると同時に，病原性以外に種を区別するための実験方法が探索されてきた。Burkholder and Starr[5] は澱粉糖化性，脂肪分解性，栄養要求，硝酸塩還元性，ペクチン利用性，食塩耐性，などは種の同定に役立つが，まだ総ての菌種を明瞭に区別することは不可能であると述べている。又 Elrod and Braun[19,20] は抗原構造と寄生性との相関々係を調べる目的で交叉凝集反応および吸収反応を用いて 36 株の種および変種について広範な研究を行い，これらの菌株を，夫々 Campestris, Vascularum, Phaseoli, Traslucens 及び Pruni の5つの group に分けた。そして夫々の group について精査した結果，この属の細菌における菌体抗原の相違は寄生性とは何等関係がないものと考えられると報告している。又 Wernham[42] は分類学的に異る 16 種の寄主から分離した 17 菌株を用いて交互接種をしたところ，病原性が著しく特異的である事実を認め，更に病原性と血清学的性質との間には殆んど完全に相関性がないことを確認して，*Xanthomonas* 属の種の決定に当つては先ず第一に病原性（寄生性）に考慮を払うべきであると主張した。これに対し Patel et Kulkarni[33] は8種の細菌を使つて調べた結果，寄主特異性を充分認めながらも，分類学的関係の遠い多数の植物に接種すればこの様な寄主特異性は存在しなくなるであろうと述べ，しかも寄生性は新しい寄主の通過によつて変化するものであるという見解に従い，病原性によつて種を区別する方法を支持していない。氏らはそこでレョフラー血清培地の溶解，蓚酸の利用，クリスタルヴィオレットに対する抵抗性および血清学的性質等によつて組立てられた key を提案しているが，供試菌株が少いことと氏らが用いた判別用の性質には反応が程度の問題で明瞭な一線をひき得ないものが多いため，この key がどの程度まで *Xanthomonas* 属に応用できるか頗る疑問である。*

以上の様にこの属の細菌は培養的性質，生理的性質が著しく似ているので現在の植物病原細菌学の知識を

* その後，氏らは *Xanthomonas* 属の新種を多数発表しているが，同定の基本はやはり病原性においている。

もつてしては病原性以外に優れた分類方法は見出されないというのが現状である。同一種の中で系統によつて寄生性が著しく異つている場合にはこれを生態種として分類している。Hagborg [25,26] の *X. translucens* の分類は有名で，氏は大麦，小麦，ライ麦およびカラス麦等禾本科植物に対する寄生性の相異によつて，この菌種を5つの生態種に分けているが，最近 Wallin et Reddy[26] はチモシー菌に対して *X. translucens* var. *phleipratensis* と命名している。

Starr et al.[38] は病原性，細菌学的性質および血清学的性質を調べた結果 *X. geranii* は *X. pelargonii* の異名とすべきであると報告し，Bergey et al.[2] は *X. itoana* を *X. oryzae* の異名として整理している。又 Patel et al.[31] は *X. proteomaculans*, *X. panici*, *X. conjaci*, *X. zingiberi*, *X. cannae* および *X. rubrisubalbicans* など 10 数種の細菌に対しグラム反応，集落の色，生理的性質等の点で再検討を要すると述べている。Bergey's Manual (1948) の *Xanthomonas* 属の中には"白色～クリーム色の集落"という一群がある。これは上記の菌種と *X. manihotis* の6種の細菌から成るものであるが，これらは *Xanthomonas* の特徴である集落の色が一致しないばかりでなくラクトーズ及びサリシンを醱酵するものはなく，又ある種は研究不充分のため糖類醱酵能は明らかでない。*X. proteomaculans* はグラム陽性でさえある。かかる点から考えてこの様な一群を，如何なる理由によつて *Xanthomonas* に属せしめたのか理解に苦しむところである。*X. panici* を初め，この中の二，三の菌種は *Xanthomonas* に属する何等の根拠もなく当然 *Pseudomonas* に入れられるべき菌種であり，この点 Patel et al. の意見に賛意を表する。

次に Dowson 以後において提案された極毛性グラム陰性桿菌に対する種々の属名の関係を一括して表に示すと次の如くである。

Simple key showing relationship of Gram-negative bacteria with polar flagella between different nomenclatures.

<table>
<tr><th colspan="3">Genus names and its characters</th><th>Authors</th></tr>
<tr><td>yellow group</td><td colspan="2">fluorescent and white group</td><td>Dowson (1939)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Pseudomonas</td><td>Bergey et al. (1948)</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Xanthomonas</td><td>fluorescent group</td><td>white group</td><td rowspan="2">Magrou et Prevot (1948)</td></tr>
<tr><td>Pseudomonas</td><td rowspan="2">Phytobacterium</td></tr>
<tr><td>chlorobacter</td><td>Patel et Kulkarni (1951)</td></tr>
</table>

次に細菌誌の中では一番新しい Elliott (1951) の Manual of Bacterial Plant Pathogens に記載されていない新種，又は新変種（大略1948年以降のもの）を，入手し得た文献の範囲内で調べた結果，*Pseudomonas* 13 種，*Xanthomonas* 33 種をあげることが出来た。これ以外にもまだ筆者が未知の報告があると思われが，一応今日までに明らかとなつた新種を掲載する。なおこれらは新種として報告されたものを総て記したものであり，夫々の菌種が分類学的に正確な種であるか否かの検討は保留する。

New organisms and their not described in Elliott's list (1951)

Pseudomonas

1. *P. dysoxyli* Hutchinson 1949, *Dysoxylum spectabile*
2. *P. hemmianus* (Yamamoto) Okabe et Goto 1951, Jimson weed
3. *P. hordei* (Goto et Nakanishi) Okabe et Goto 1951, Barley
4. *P. lauracearum* Harvey 1952, *Umbellularia Californica*
5. *P. rubi idaei* Natalina et al. 1954, Raspberry
6. *P. stiafaciens* var. *Japonica* Ikata et al. 1955, Barley and Wheat
7. *P. tagetis* Hellmers 1955, African marigold
8. *P. tectonae* Roldan et Anders 1954, Teak (*Tectona grandis*)
9. *P. theae* Okabe et Goto 1955, Tea
10. *P. titis-woodrowii* Patel et Kulkarni 1951, *Vitis woodrowii*
11. *P. papaveris* Lelliott et Wallace 1955, *Papaver rhoeas*
12. *P. caucasicum* Shneider 1954, Apricots
13. *P. cepacia* Burkholder 1950, onion

Xanthomonas

1. *X. alysicarpi* Bhatt et Patel 1954, *Alysicarpus rugosus*
2. *X. amaranthicola* Patel et al. 1952, *Amaranthus viridis*
3. *X. axonoperis* Starr et al. 1950, Imperial pasture grass
4. *X. badrii* Patel et al. 1950, *Xanthium strumarium*
5. *X. betlicola* Patel et al. 1951, *Piper betle*
6. *X. bilvae* Patel et al. 1953, *Aegle marmelos carrea*
7. *X. brideliae* Bhatt et Patel 1954, *Bridelia hamiltoniana*
8. *X. buteae* Bhatt et Patel 1955, *Butea frondosa*

9. *X. cajanii* Kulkarni et al. 1950, *Cajanus cajaa*
10. *X. cassiae* Kulkarni et al. 1951, *Casssia torn*
11. *X. cassava* Wiehe et Dowson 1953, *Manihot utilissima* (Cassava)
12. *X. clerodendroni* Patel et al. 1952, *Clerodendron phomoidis*
13. *X. cyamopsidis* Patel et al. 1953, *Cyamopsis tetragonolaba*
14. *X. desmodii* Uppal et Patel 1949, *Desmodium diffusum*
15. *X. desmodeii-gangeticii* Uppal et al. 1948, *Desmodium gangeticum*
16. *X. erythrinae* Patel et al. 1952, *Frythrina indica*
17. *X. kresek* Schure 1953, Rice
18. *X. lawsoniae* Patel et al. 1951, *Lawsonia alba*
19. *X. lochneae* Patel et al. 1955, *Lochnera pusilla*
20. *X. melhusi* Patel et al. 1952, Teak
21. *X. nigromaculans* f. sp. *Zinniae* Hopkins et Dowson 1949, Zinnia
22. *X. oryzae* var. *dianthi* Thomas et Dickens 1953, Carnation
23. *X. phaseoli* var. *indicus* Uppal et al. 1953, *Phaseolus vugaris, P. lunatus, Dolichos lablab, P. coccineus*
24. *X. poinsettiaecola* Patel et al. 1951, *Euphorbia pulcherrima*
25. *X. sesbaniae* Patel et al. 1952, *Sesbania aegyptica*
26. *X. stizolobiicola* Patel et al. 1951, *Stizolobium deeringianum*
27. *X. Striaformans* Thomas et Weinhold 1953, Onion
28. *X. tamarindi* Patel et al. 1951, *Tamarindus indica, Caesalpinia sepiaria*
29. *X. tephrosiae* Bhatt et Patel 1955, *Tephrosia purpurea*
30. *X. translucens* var. *phleipratensis* Wallin et Reddy 1955, Timothy
31. *X. uppalii* Patel 1948, *Ipomea muricata*
32. *X. uredovorus* Pon et al. 1954, Uredia of cereal rust
33. *X. vasculorum* f. *zeae* 1949, Maize

(1956年6月15日受理)

参考文献

1) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 5 ed. (1939).
Phaseolus vulgaris, P. lunatus, Delichos lablab, P. coccineus
2) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6 ed. (1948).
3) Burkholder, W. H.: Phytopath., 20: 1～23. (1930).
4) Burkholder, W. H.: Phytopath., 29: 128～136. (1939).
5) Burkholder, W. H., M. P. Starr: Phytopath., 38: 494～502. (1948).
6) Burkholder, W. H..: Phytopath., 44: 592～596. (1954).
7) Bryan, M. K.: Jour. Agr. Res., 36: 225. (1928).
8) Brown, N. A.: Jour. Agr. Res., 13: 367～388. (1918).
9) Buchanan et al.: Jour. Bact., 55: 287～306. (1948).
10) Clara, F. M.: Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem., 159: 1～36. (1934).
11) Dowson, W. J.: Zbl. Bakt., Abt. II. Bd., 100: 177～193. (1939).
12) Dowson, W. J.: Chr. Bot., 9: 198～199. (1941).
13) Dowson, W. J.: Trans. Brit. Mycol. Soc., 25: 215～216. (1941).
14) Dowson, W. J.: Trans. Brit. Mycol. Soc., 26: 4～14. (1943).
15) Dowson, W. J.: Fourth Internat. Congress Microbiol.: 423. (1947).
16) Dowson, W. J.: Manual of Bacterial Plant Diseases. (1949).
17) Elliott, C.: Bot. Rev., 9: 655～666. (1943).
18) Elliott, C. : Manual of Bacterial Plant Pathogens. (1951).
19) Elrod, R. P., A. B. Braun: Jour. Bact., 53: 509～518, 519～524. (1947).
20) Elrod, R. P., A. C. Braun: Jour. Bact., 54: 349～357. (1947).
21) Elrod. R. P., A. C. Braun: Jour. Bact., 44: 633～644. (1942).
22) Friedman, B. A.: Phytopath., 40: 9～10. (1590).
23) Friedman, B. A.: Phytopath., 41: 880～888. (1951).
24) 後藤正夫・岡部徳夫：静大農・研究報告, 2：15～24. (1952).
25) Hagborg, W. A.: Canad. Jour. Res., 20: 312～316. (1942).
26) Hagborg, W. A.:Sci. Agr., 26: 140～146. (1946).
27) Hingorani, M. K., D. S. Malla : Indian Phytopath., 4: 58～59. (1951).
28) Magrou, J., A. R. Prevot: Compt. Rend, Acad. Sci., (Paris) 226: 1229～1230. (1948).
29) Magrou, J., A.R. Prevot: Ann. Inst. Pasteur, 75: 1～10. (1948).
30) Mehta. M, M., E. M. Berridge: Ann. Appl. Biol., 2: 318～323. (1924).
31) Patel, M. K., Bhatt, V. V., & Y.S. Kulkarni: Indian Phytopath.. 5: 116～120. (1952).
32) Patel, M. K., Y. S.-Kulkarni : Indian

Phytopath., 4: 74～84.(1951).
33) Patel, M. K., Y. S. Kulkarni : Indian Phytopath., 4: 123～140. (1951).
34) Paine, S. G., J. M. Branfoot: Ann. Appl. Biol., 2: 312. (1924).
35) Starr, M. P., W. H. Burkholder: Phytopath., 32: 598～604. (1942).
36) Starr, M. P., J. E. Weiss: Phytopath., 33: 314～318. (1943).
37) Starr, M. P.: Jour. Bact., 51: 134～140.(1945).
38) Starr, M. P., Z. Volkani & D. E. Munnecke: Phytopath., 45: 613～617. (1955).
39) Stapp, C: Beitr. Biol. Pfl., 31: 2～3, 515～524. (1955). (R. A. M. 34: 438).
40) Tessi, J. L,: Rev. Invest. Agr., B. Aires. 7: 131～145. (1953). (R. A. M. 34: 779)
41) Wernham, C. C.: Abst. of Thesis. (1936).
42) Wernham, C. C. : Phytopath., 38:283～291.
43) Wilson: Bergey's manual 参照 (1940).

Pseudomonas 属の新種に関する文献

1) Goto, K. & I. Nakanishi : Ann. Phytopath. Soc. Jap., 15: 117～120. (1951).
2) Harvey, J. M.: Madrono, Calif., 2.: 195～198. (1952). (R.A.M 31: 261).
3) Hellmers, E,: Acta. Agr. Scand., 5 (2～3): 185～200.
4) Hutchinson, P. B.: New Zeal. J. Sci. and Technol., 30: 274～286. (1949).
5) Lelliott, R. A. & M, M. Wallace : Trans. Brit. Mycol. Soc., 38: 88～91. (1955).
6) Mukoo, H.: Jubilee, Public. Prof. Tochinai and Prof. Fukushi (1955).
7) Natal'ina Mme O. B. et al. : C. R. Acad. Sci. U. S. S. R. , 99: 483～484. (1953). (R.A. M. 35: 28.)
8) Okabe, N. & M. Goto: Rep. Agr. Fac. Shizuoka Univ., 5: 63～71. (1955).
9) Patal, M. K. & Y. S. Kulkarni: Curr. Sci., 20: 132. (1951).
10) Roldan, E. F. & P. P. Anders: Philipp. J. For., 9: 133～142. (1954). (R.A.M. 34: 497).
11) Shneider, Y. I. : (Microbiology, Moscow) 23: 698～701. (1954).
12) Yamamoto, M.: Forsch. Pflkr., Kyoto. 4: 160～168. (1951).
13) Burkholder, W. H.: Phytopath., 40. (1950).

Xanthomonas 属の新種に関する文献

1) Bhatt, V.V. & Y. S. Kulkarni:: Curr. Sci., 23: 165. (1954).
2) Bhatt, V.V. & M.K. Patel: Curr. Sci., 24: 94. (1955).
3) Hopkins, J. C. & W. J. Dowson : Trans. Brit. Mycol. Soc., 32: 252～254. (1949).
4) Kulkarni, Y. S. et al.: Indian Phytopath., 5: 21～22. (1953).
5) Kulkarni, Y. S., et al. : Curr. Sci., 20: 47.
6) Patel, M. K. et al.: Indian Phytopath., 5: 146～151. (1952).
7) Patel, M. K. et al.: Indian Phytopath., 3: 103～104. (1950).
8) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 20: 106.(1951).
9) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 22 : 216～217. (1953).
10) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 21: 74～75. (1952).
11) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 22: 183.(1953).
12) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 18: 213.(1949).
13) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 17: 268.(1948).
14) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 21: 345～346. (1952).
15) Patel, M. K. et al.: Indian Phytopath., 4: 144～151. (1951).
16) Patel, M. K. et al.: Curr. Sci., 24: 20～21. (1955).
17) Patel, M. K. et al.: Indian Phytopath., 6: 131～140. (1953).
18) Patel, M. K. et al.: Indian Phytopath., 6: 131～140. (1953).
19) Katel, M. K. et al.: Curr. Sci., 20: 106.(1951).
20) Katel, M. K.: Indian Phytopath., 1 : 67～69. (1948).
21) Pon, O. S. et al.: Phytopath., 44: 707～710. (1954).
22) Starr, M. P. & O. C. Garcés : Rev. Fac. Agron. Medellin., II: 73～83. (1950). (R.A.M 30: 474)
23) Shure (Miss P. S. T.) : Contr. Gen. Agric. Res. Sta., Bogor., 136 : 17. (1953). (RAM, 34: 672).
24) Thomas, W. D. & L. E. Dickens : Abs. in J. Colo.-Wyo. Acad. Sci., 4 : p. 22. (1953).
25) Thomas, W. D. & A. R. Weinhold : Abs. in J. Colo.-Wyo. Acad. Sci., 4: 23. (R.A.M. 34 : 202).
26) Wallin, J. R. & C. S. Reddy : Phytopath., 45 : 937～939. (1955).
27) Wiehe, P. O. & W. J. Dowson : Emp. J. Exp. Agr., 21 : 141～143. (1953).

カーボワックス包埋による植物病害組織標本作製法

高　橋　幸　吉*

Kōkichi TAKAHASHI: A general method of making plant histopathologic preparations with carbowax embedding.

カーボワックス (carbowax, 以下 CW と略記) とは Carbide and Carbon Chemicals Corporation (N. Y., U. S. A.) の商品名で，水溶性軟膏基剤として活躍している物質であるが，油蠟様物質でしかも水溶性であるために組織切片作製の包埋材料として着目された。即ちパラフィン法(薄切可能), セロイヂン法(収縮なく，染色力優秀) 及び凍結法 (迅速，脂肪染色) の主要三法の長所を兼ね備えた万能組織包埋剤として主に医学方面の組織学的検索に利用されつつある。

しかし植物組織に利用を試みた報告は少く，安達[1]が大豆莢組織で，井浦[4]は甘藷の不定芽原基で使用結果を紹介しているのみのようである。

筆者は種々の植物病害組織にこの方法を試みたが，初めは何時でも好結果を収め得るというわけにはいかなかつた。それは植物病害組織が正常組織よりも一層崩壊し易いことにもよるが，CWそれ自体の欠陥によるものが多いと認められた。即ち (1) 包埋固化の際に顆粒状に結晶が析出することが多く，そのため均質性を欠いて薄切りが出来ずかつ不透明となつて材料の透視が困難となる。(2) 吸湿性が強く高温多湿の時期における取扱いが難しい。(3) 連続切片の作製が困難である。(4) 強い親水性のため破壊し易い組織では薄切片を水に浮べた際に，その溶解の勢いで離散し易い等を挙げることが出来る。以上の諸欠点は医学方面でもその改善に苦心している様でその結果として最近ではパラフィン併用法が奨められている[2, 4, 6]。しかし筆者は，このCW法の簡易性を失わせぬように，CW単独による包埋法の改良につとめ，最近に至つてその欠点を克服し得る要領を考案し非常に好結果を収めているので御参考に供したい。

1. CW の性状

CWの性質については加藤ら[5]による詳しい報告があるが，ここに要点のみを記す。

CWの化学名は polyethylene glycol で $CH_2OH \cdot (CH_2OCH_2)_n \cdot CH_2OH$ なる一般式を有し，この CH_2OCH_2 の重合度即ち n の多少によつて種々の分子量のものを生ずる高次重合体の物質である。平均分子量 1000 を境として，それ以下 200 迄のものは粘稠無色の液体で特有の微臭を有し，それ以上 6000 のものは白色半固体乃至蠟状の固体で無味無臭である。製造元の C. C. C. C. に従えば，これを区別して前者を polyethylene glycol, 後者を carbowax compounds と呼び分子量を併記する。例外として CW1500 と呼ぶものは分子量 300 と 1540 の等量混合物で，常温でワセリン状の不透明半固体物質である。(以下CWの種類は平均分子量で示す)。融点，比重及び粘稠度等は分子量が多くなるにつれて増加し，水溶性，蒸気圧，吸湿性及び有機溶剤に対する溶解性等は一般に減少する。組織包埋に利用するCWは普通 1500, 4000 及び 6000 の固体のもので融点は各 35～40, 50～55 及び 58～62°C である。何れも水溶性でアルコールには常温で殆ど溶けないが，55°C では良く溶ける。パラフィンとは高温でも混和しない。これらを室温と埋蔵材料により適宜混合して使用する (三種共大日本製薬発売各 250 g 入現価 420 円)。使用後の屑も混入物を沪過除去すれば何回でも回収して使用出来る。

2. CW 包埋

組織の固定はどんな固定液でもよく，充分固定，水洗する。

CW 漬浸: 水分を沪紙でよく吸取つてからCWに入れる。この際パラフィン法における繁雑な脱水操作は全く不要である。最初から包埋用CWに浸漬してもよいが，普通は 55°C の定温器に包埋CWを入れる容器と，その他に 3 個の小型容器即ち I は 1500 のみ，II は 1500 と 4000 の等量混合，III は包埋用CWと同様のものを準備し順次組織片を移し替える。浸漬時間は普通の組織片 (5×5×2 mm) では各 30 分， 20 分及び 1 時間で充分である。包埋には普通 4000 のみでよいが，特に高温多湿の時期では III に 4000，更に IV として 4000 と 6000 を 4:1 の割合に融解準備し，包埋も同様の混合比のものを用いることにより適度の

* 農林省東北農業試験場盛岡試験地

硬さを得，かつ吸湿を避けられる。この場合定温器は6000 の融点 60°C 内外とする。60°C 以上で組織片の収縮或は変質の恐れがある材料では，予め加熱熔融したCWは融点以下に若干降下しても凝固しないから比較的低い温度でも操作包埋出来る。なお夏及び梅雨期の高温多湿の季節におけるCWの保存はデシケーターを利用して吸湿を避けることが必要で，特に 1500 は4000 及び 6000 の 30 倍の吸湿性があるので 1500 及びこれを混合したCWは注意を要する。また冬季に於て特別に薄い切片を所望される場合の包埋は 4000 に少量の 1500 を混合（筆者の 1 例では室温 15°C で 8: 2）して少し軟くしたCWを用いる。

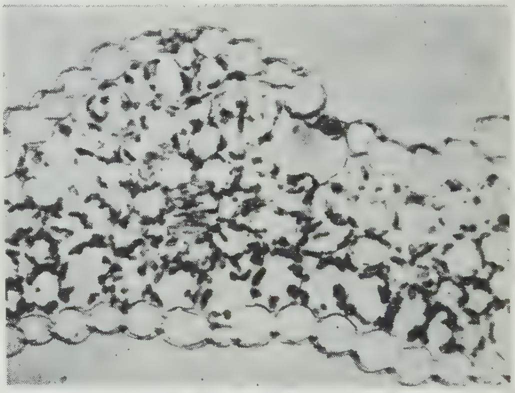
包　埋：CWの第Ⅲ乃至Ⅳ液迄順次浸漬して組織片が飴色となる迄充分滲透を認めた後に予め新しく溶融準備された包埋用CWに組織片を埋蔵凝固させる。包埋用の容器は古葉書或は少々厚手の紙等でその都度適当の大きさの折箱を作つて使用するのが最もよい。硝子或は陶器の容器を用いる場合は予め温めて置く。前述の様にCWは固化の際に結晶が析出し易く，そのため不透明となり，甚だしい時は内部に空洞を生じていることもあり非常に工合が悪い。そこで包埋用の容器にCWと組織片を移してから，温めたピンセットでゆつくりと隈なく攪拌し続けながら徐々に冷し粘稠度を増してきてから組織片を所定の位置に整え室温で凝固せしめる。この場合CWの粘稠度が高いので組織片を思う位置に留めて固化出来る。唯攪拌は少々早めに止めて静置しなければ固化したケーキに攪拌の跡が縞状に残り，台木にとりつける際に亀裂崩壊することがあるから要領を要する。かくして常に均質に凝固し，埋蔵材料を充分に透視出来る程度の半透明，かつ均質で切片作製が容易なケーキが得られる。尚更に透明度を増し凝固を良好にするためには鈴江ら[8]の奨めるラウリール硫酸ナトリウムをすべてのCW中に 0.1 %宛混和して置くとよい。

3. 切片作製

包埋を終つた組織片はパラフィン法の場合と同様な要領で台木に固着させ，滑走式ミクロトームを用い，希望の厚さに切片を作る。前述の如く種々の融点のCWの混合により或は切片作製の際に電気スタンドを近づけてその弱い光熱によつて硬さを加減して，パラフィン法と同程度に薄く切れる。切片は普通巻き込んでロール状になるがこれを唾液或は水で湿した紙先に一端を附着させて水に移すとCWは瞬時に溶け去つて組織片は充分に進展する。水中で伸びた切片は遊離切片の儘染色するか，或は卵白グリセリンを塗つたスライドに貼り付け乾燥してから染色に廻す。材料が操作中にねじれたり損傷し易い場合は卵白グリセリンを塗つたスライド上に1～2 滴の水を落し，これにロール状の切片を直接移し，組織片が充分に伸びたらスライドを傾け一端から余分の水を流し去つて後に乾固させる。そして染色前にもう一度水に浸してCWを充分に流し去る。特に崩壊し易い組織では水の代りに 10～30 %の砂糖水を用いてCWの急激な溶解を弱めるとよい。

連続切片作製：CW単独包埋ではリボン状に連続切片を作ることは困難である。そこで特に切片を連続的に欲する場合は予め多数の時計皿或は肉池等を並べて置きそれに切片を順次浮ばせてCWを溶除し順序に染色に移すか，或は切片を予め卵白グリセリンを塗つたスライドの水滴上に受けて組織片を進展させ，しかる後に位置を正しく整え順次に番号を付して乾燥し染色に廻す方法をとる。

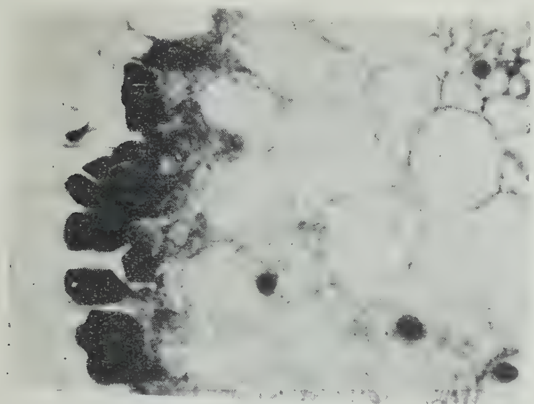
リボン状に連続切片を作るには篠遠ら[6], Goland et al.[2] 及び井浦[4]によつて考案された，CWを滲透させた組織片を更にパラフィンに包埋するという両者の長所を利用した方法がある。しかし筆者の経験ではこの併用法は二重の操作と設備と硬さの加減等の繁雑さを加え，かつ多少の熟練を要するようである。



第1図　小麦葉組織に蔓延した小麦赤銹病菌々糸の Pianese IIIb 染色，厚さ 15μ, ×190

4. 染色及び封入

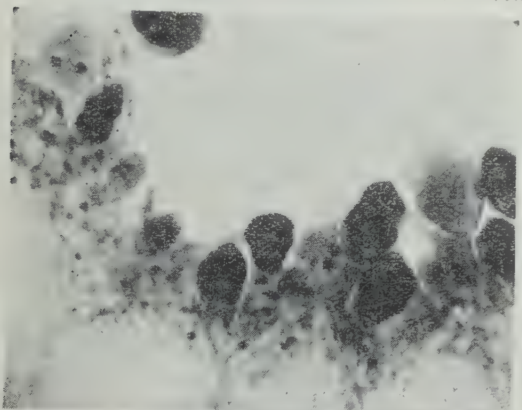
CWを水で溶除した切片は，パラフィン法の脱パラの完了したもの，または凍結切片と同様な状態にあるわけで一般の染色法に準じてよく，特別の操作は不要である。筆者の主な材料である銹菌感染の細胞学的観察のための染色には Pianese IIIb, Fleming's triple stain, Heidenhain's iron hematoxylin-orange G 等を用いたが何れも染色力優れ，きれいな標本が出来



第2図　小麦葉組織に形成された未熟の小麦赤銹病菌夏胞子堆組織の Fleming's triple stain, 厚さ 10μ, ×550

た（第1～4図）。永久標本にするためには脱水透明後カナダバルサムで封ずるが，簡略には凍結切片法に利用される Apáthy のゴムシロップで染色後の切片が乾かぬ中に封ずるとよい。

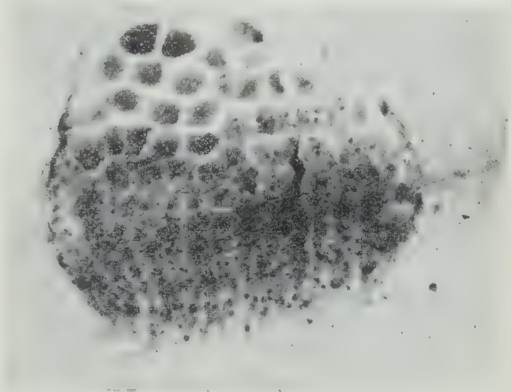
CW包埋法は以上述べた如く凍結切片法の様に即刻



第3図　小麦葉組織に形成中の小麦赤銹病菌夏胞子のHeidenhain's iron hematoxylin-orange G による核染色，厚さ 8μ, ×680

に切片作製というわけにはゆかぬが，固定及び水洗いの時間を除けば小片なら最短1時間（浸漬，包埋共に4000 のみ）で包埋が完了するという迅速性を有し，また従来の複雑な脱水包埋に比較して格別に簡易な方法であり，更に有機溶剤を必要としないため経済的である点で優れた利用価値をもつている。

また医学方面ではCWが水溶性でかつ有機溶剤を必要としないことから各種脂肪染色に応用され，55°C のアルコールに溶解する性質を利用して糖原染色に[3,6,7,8,9]，またCW浸漬包埋操作中の温度を或程度低くする方法を考案して鉄，酵素，及びビタミン等の検



第4図　アキカラマツ葉組織に形成中の小麦銹病菌銹子腔内銹胞子の Heidenhain's iron hematoxylin-orange G による核染色，厚さ 8μ, ×680

索に[3,6,9]成功している等，組織化学的方面への応用が報告されている。植物病理学に於ても今後この方面への活用が期待される。　　(1956 年5月 11 日受理)

引用文献

1) 安達篤： 農技研報告，G 5： 89～94. (1953).
2) Goland, P. P., et al.: Stain Tech., 29: 5～8. (1954).
3) 市田文弘，他： 日本病理学会会議誌 39，地方会議誌：156～159. (1950).
4) 井口徳： 農及園., 30： 995～996. (1955).
5) 加藤貞武，他： 薬学研究，23： 13～22. (1951).
6) 篠遠厚，他： 日本医事新報，1437：16～19. (1951).
7) 鈴江懐，他： 日本医事新報，1377：18～21. (1950).
8) ――： 綜合医学，8： 8～10. (1951).
9) 久我正己： 京都府医大誌，48：410～412. (1951).

本 会 記 事

日本学術会議会員選挙

さきに行われた第4期日本学術会議会員選挙の結果，本会会員の中から九州大学農学部教授吉井甫氏（全国区）と東北大学農学部教授田杉平司氏（東北地方区）とが当選された。

地域部会

昭和31年10月28, 29日，関西部会（講演数57）が香川大学学芸学部で，同年12月1日，北海道部会（講演数32）が北海道大学農学部で，また同年12月15日，冬季関東部会（講演数35）が農林省農業技術研究所で開催せられた。

役員会

次の通りに開かれた。

昭和31年12月7日　在京役員会

昭和31年12月27日　日本農学賞候補論文並日本植物病理学会賞受賞者選考委員会

会員へのお知らせとお願い

（1）本年9月8日から15日までドイツのハンブルグで開かれる国際作物保護学会の分科会の内容は次の通りです。

A．基礎的研究（1）一般病理学，寄生学，寄主一寄生者関係（2）バイラス病（3）バクテリア，糸状菌，高等植物による病害（4）動物による病害

B．治療（防除）　C．貯蔵物の保護　D．防除手段　E．検疫　F．植物保護機構

（2）まえにもお願いしましたが，会員の研究報告の別刷を1部ずつ本会宛に御寄贈下さるようお願いいたします。

（3）昭和32年度大会講演要旨集は昭和31年度地域部会講演要旨と共に印刷し，第21巻別刷として希望者に実費で配布する予定でしたが，都合により22巻1号として会員全部の方にお送りすることにいたしました。22巻1号は来る3月10日頃発送の予定です。

会員移動

新入会員

石島　崭　東京都府中市栄町駒場寮
呂　理　桑　台湾大農学院植物病理研究室（台北市）
大久保良一　京都大学農学部植物病理学研究室（京都市左京区北白川）
東　純雄　岡山県立成羽高校（上川郡川上町）
深沢　茂　日本専売公社福岡地方局（福岡市妙見）
津留洋子　九州農業試験場（筑後市和泉）
佐藤卓朗　山内製薬株式会社小豆沢工場（東京都板橋区志村小豆沢町 1—10）
玉利勤次郎　新潟大学農学部（新潟市河渡）

住所変更

白坂信己　福岡県園芸原種農場（平市大字塩字中島8）
土倉亮一　京都大学農学部植物病理学研究室（京都市左京区北白川）
安盛　博　島根農科大学植物病学研究室（松江市乃木福富町）
逵山和紀　同上
今野桃太郎　柏市常磐台30桑原みどり方
田淵武樹　新野高校（徳島県那賀郡橘町）
白浜賢一　東京都庁経済局農業改良課（千代田区丸ノ内）
前原逸喜　広島県神石郡油木町大字新免
小池　博　福島県伊達地方病害虫防除所（伊達郡桑折町陣屋）
茂木静夫　東北大学農学部植物病理学研究室（仙台市北六番丁）
水本　晋　静岡県二俣町山本栄町
木村勝太郎　県立徳島農業高校（福島市鮎喰町２丁目）
中川原孝　上北地方病害虫防除所（十和田市大字三本木字南金崎）
島津末治　山形県立置賜農業高校（東置賜郡川西町上小松）

昭和31年12月20日印刷　日本植物病理学会報（毎年4回発行）定価140円　送料16円
昭和31年12月25日発行　第21巻，第4号

発行所　東京都北区西ケ原町農林省農業技術研究所内　日本植物病理学会
発売所　東京都文京区森川町70　養賢堂内　日本植物病理学会事務取扱所（振替東京 83339）
編集兼発行者　東京都目黒区下目黒4丁目農林省林業試験場　今関六也
印刷者　東京都文京区森川町70番地　養賢堂代表者　及川伍三治

Vol. XXI, No. 4 Dec., 1956

ANNALS OF THE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

President T. FUKUSHI

CONTENTS

ANNALS OF THE PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN is published quarterly for the present by the Phytopathological Society of Japan.

BUSINESS CORRESPONDENCE concerning subscription and remittance from foreign countries should be made to:

YŌKENDŌ

70, Morikawachō, Bunkyō-ku, Tōkyo, Japan